საქართველოს სახელმწიფო აგრარული უნივერსიტეტი

ნიკოლოზ ზაზაშვილი

მცენარეული სუბსტრატისაგან დამზადებული საკვები არე აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის

ვეტერინარიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

სავეტერინარო მიკრობიოლოგია, ვირუსოლოგია,
ეპიზოოტოლოგია, მიკოლოგია, იმუნოლოგია და
პარაზიტოლოგია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ვეტერინარიის მეცნიერებათა
დოქტორი, სრული პროფესორი
ჯემალ ნაჭყებია

2010

შ ი ნ ა ა რ ს ი

1. შესავალი ;.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა ;
   2.1. თხიერი საკვები არე აერობული და ფაკულტატური ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის ;
   2.2. მყარი საკვები არე აერობული და ფაკულტატური ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის ;
   2.3. თხიერი საკვები არე ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის ;
   2.4. მყარი საკვები არე ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის ;
   2.5. მცენარეული სუბსტრატისაგან დამზადებული საკვები ნიადაგები ;
   2.6. საკვები ნიადაგები, რომლებიც გამოყენებულია ზოგიერთი დაავადების აღმძვრელის ბიოქიმიური აქტივობის დასადგენად და კულტივირებისათვის;

3. საკუთარი გამოკვლევები ;
   3.1. კვლევის მასალა და მეთოდები ;
   3.2. მცენარეული კულტურებისაგან დამზადებული ნიადაგის ქიმიური შედგენილობა ;
   3.3. საცდელ მშრალ საკვებ ნიადაგზე აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირება ;

4. ახალი საკვები არე აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის ;
   4.1. ახალი საკვები არე აერობული და ფაკულტატური ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის ;
   4.2. ახალი საკვები არე ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის ;

5. კლოსტრიდიების შეწყვილების ცდები ეშერიხიებთან და სტაფილოკოკებთან ;
   5.1. კლოსტრიდიებისა და ეშერიხიების შეწყვილების ცდები ახალ საკვებ ნიადაგზე ;
   5.2. კლოსტრიდიებისა და სტაფილოკოკების შეწყვილების

ცდები ახალ საკვებ ნიადაგზე ;

5.3. ახალ საკვებ ნიადაგზე E.coli-ს კლოსტრიდიალური რეკომბინანტებისაგან დამზადებული ვაქცინის იმუნოგენური თვისებების შესწავლა ;

6. ზოგიერთი ბიოლოგიური, ქიმიური და ფიზიკური ფაქტორების გავლენა Cl.perfringens-ის თვისებებზე ;
   ა) იმუნური შრატის გავლენა ;
   ბ) სტრეპტომიცინის გავლენა Cl.perfringens-ის თვისებებზე ;
   გ) დაბალი ტემპერატურის გავლენა Cl.perfringens-ის თვისებებზე ;

7. მიღებული შედეგების განხილვა;
8. დასკვნები ;
9. პრაქტიკული წინადადებები ;
10. გამოყენებული ლიტერატურის სია .

1. შ ე ს ა ვ ა ლ ი

მეცნიერების უდიდესი მიგნება იყო ის, რომ მათ შეამჩნიეს მეტად მნიშვნელოვანი ფაქტი, – ბაქტერიები, რომლებიც იწვევენ ინფექციურ დაავადებებს, საკვები პროდუქტების გაფუჭებას და მრავალ სხვა საზიანო მოქმედებას, იზრდებიან ბუნებრივ სუბსტრატებზე, საკვებში, რამაც ხელოვნური საკვები ნიადაგების დამზადებამდე მიგვიყვანა. მეცნიერებმა განსაზღვრეს, რომ თუ ბაქტერიები იზრდებიან ხორცის ბულიონში, რძეში, კვერცხში, კარტოფილზე და სხვა საკვებ პროდუქტებზე, რატომ არ შეიძლება მომზადდეს ხელოვნური საკვები ნიადაგი იგივე სუბსტრატზე, ოღონდ სპეციალური დამუშავებით.

ამგვარად, შეიქმნა საკვები ნიადაგები, რომლებიც ითვალისწინებდნენ თითოეული მიკრობის ზრდა-განვითარებისათვის საჭირო შემადგენლობას, იმავდროულად, დიდი რაოდენობა მიკროორგანიზმებისა იზრდებოდა მარტივ ხორც-პეპტონიან ბულიონში და აგარში, რომელიც უზრუნველყოფდა მათ ყველა იმ ნივთიერებით, რომელიც გამრავლებისათვის იყო აუცილებელი, მაგრამ იყო ბაქტერიები, რომლებიც საჭიროებდნენ უფრო რთულ შემადგენლობას, იყვნენ მომთხოვნი, განსაკუთრებული თვისებების მქონე ცილების, ცხიმების, ნახშირწყლების, მინერალური მარილების, ვიტამინებისადმი; გარდა ამისა, სუნთქვისადმი, ჟანგბადის მოხმარებისადმი მათი დამოკიდებულება იყო განსხვავებული, ეს კი ქმნიდა იმის საჭიროებას, შექმნილიყო ისეთი საკვები არე, რომ ანაერობულ პირობებში მცხოვრებ მიკრობებს

მისცემოდათ საშუალება გამრავლებისათვის, ბიომასის დაგროვებისა და ტოქსიგენობის შენარჩუნებისათვის, ან ისეთები, რომლებიც ნახშირორჟანგის გაზრდილ კონცენტრაციას საჭიროებდნენ.

მიკროორგანიზმებს ზრდა-განვითარებისათვის სჭირდებოდათ წყალი, რომელშიც გახსნილია საკვები ნივთიერებები, რომლითაც ისინი აშენებენ ორგანიზმის შემადგენელ ნაწილებს, ე.ი. ყველა საჭირო ელემენტები, რომლისგანაც შედგება მიკრობული უჯრედი და რომელთა ათვისება შეუძლია მას წყალში გახსნილი მდგომარეობიდან, შემდგომ კი სინთეზი ცილების, ნახშირწყლების, ლიპიდების, ნუკლეოპროტეიდების, ფერმენტების, ვიტამინების და სხვ.

მიკროორგანიზმების უჯრედში შედის არაორგანული ნაერთები – ფოსფორი, გოგირდი, ნატრიუმი, კალიუმი, კალციუმი, რკინა, სილიციუმი, ქლორი და სხვა; მიკროელემენტები – მოლიბდენი, კობალტი, თუთია, მანგანუმი, სპილენძი და სხვ.

ცილები განფენილია ციტოპლაზმაში, ნუკლეოიდში, ციტოპლაზმურ მემბრანაში და სხვა სტრუქტურებში და შეადგენს უჯრედის მშრალი ნაშთის 58–80%-ს.

ცილების შემადგენლობაში შედის ნუკლეოპროტეიდები, ლიპოპროტეიდები, ფერმენტები და სხვ.

ნახშირწყლების ძირითადი ნაწილი, ეს არის პოლისაქარიდები, რომლებიც იმყოფებიან თავისუფალ მდგომარეობაში ან შეჭიდულად ცილებთან და ლიპიდებთან. ბაქტერიული ლიპიდები შედგება თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავებისაგან, ნეიტრალური ცხიმებისაგან, ცვილისა და ფოსფოლიპიდებისაგან.

ბაქტერიულ უჯრედში საკვები ნივთიერებების მოხვედრა და ნივთიერებათა ცვლის საბოლოო პროდუქტების გარეთ გამოტანა სრულდება უჯრედის მთელი ზედაპირით.

ცნობილია ორი ძირითადი გზა საკვები ნივთიერებების მოხ-ვედრისა უჯრედში – ოსმოსი და ადსორბცია. ოსმოსი წარმოადგენს ნივთიერების დიფუზიას ხსნარიდან ნახევრად გამტარი მემბრანის საშუალებით. ოსმოსური შეღწევა უჯრედში წარმოებს ოსმოსური წნევის სხვაობის ხარჯზე გარემოსა და მიკრობულ უჯრედს შორის.

თუ ოსმოსური წნევა ბაქტერიულ უჯრედში რამდენადმე მეტია, ვიდრე გარემო არეში, მაშინ წყლის შეღწევა სჭარბობს გამოტანას და უჯრედი იმყოფება დაჭიმულ მდგომარეობაში ანუ ტურგორში.

თუ მიკრობული უჯრედი მოხვდება არეში, სადაც ოსმოსური წნევა მეტია უჯრედისაზე, მაშინ ციტოპლაზმა გასცემს წყალს გარემოში, საკვები ნივთიერებების შეღწევა უჯრედში წყდება, მიკრობული უჯრედის შიგთავსი მცირდება მოცულობაში და პროტოპლასტები სცილდება უჯრედის გარსს, რაც იწვევს პლაზმოლიზს.

გარემო არის დაბალი ოსმოსური წნევის დროს, პირიქით, ადგილი აქვს პლაზმოპტიზს, როდესაც ციტოპლაზმა სწრაფად გადაივსება წყლით, რაც იწვევს უჯრედის გარსის გახლეჩას, რასაც ადვილად შევნიშნავთ, თუ ბაქტერიულ უჯრედებს მოვათავსებთ დისტილირებულ წყალში.

სხვადასხვა სახეობის მიკროორგანიზმების მოთხოვნილება საკვებ ნივთიერებებზე, განსაკუთრებით აზოტსა და ნახშირბადზე, განსხვავე-ბულია და სპეციფიკური. მაგალითად, ნახშირბადი წარმოადგენს უმნიშვნელოვანეს ელემენტს, როგორც ორგანული ნაერთების

წარმომქმნელი. ნახშირბადის წყაროს მიხედვით მიკროორგანიზმები შეიძლება დავყოთ ორ ჯგუფად: ავტოტროფებად და ჰეტეროტროფებად.

ავტოტროფულ მიკროორგანიზმებს შეუძლიათ ნახშირბადის ერთადერთ წყაროდ, ორგანული ნაერთების სინთეზისათვის გამოიყენონ ნახშირორჟანგი და მისი მარილები.

ჰეტეროტროფულ მიკროორგანიზმებს ნახშირბადის წყაროდ სჭირდებათ ორგანული ნაერთები, რომლებსაც გარდაქმნიან და აშენებენ საკუთარი უჯრედის ორგანულ ნაერთებს.

უმრავლესი ჰეტეროტროფული მიკროორგანიზმები ცხოვრობენ ცხოველური და მცენარეული ორგანული ნაერთების დაშლის ხარჯზე, ისინი საპროფიტებია და მონაწილეობენ ორგანული ნაერთების მინერალიზაციის პროცესში, ორგანულ ნაერთებს გარდაქმნიან არაორგანულ ნაერთებად.

ზოგიერთი ჰეტეროტროფული ორგანიზმები პარაზიტებია, რომელთაც ცხოვრება შეუძლიათ სხვა ორგანიზმის ხარჯზე, ისინი იწვევენ დაავადებებს ადამიანში, ცხოველებში, მცენარეებში, ესენი პათოგენური მიკროორგანიზმებია.

ჟანგბადის მოხმარების მიხედვით შეიძლება დავასახელოთ მიკროორგანიზმების სამი ჯგუფი: ობლიგატური აერობები, რომელთაც შეუძლიათ მიიღონ ენეგია მხოლოდ სუნთქვის საშუალებით და, ამდენად, საჭიროებენ ჟანგბადს; ობლიგატური ანაერობები, რომელთაც შეუძლიათ არსებობა მხოლოდ ჟანგბადის გარეშე; ფაკულტატური ანაერობები, რომლებიც არსებობენ და იზრდებიან როგორც ჟანგბადიან არეში, ისე უჟანგბადოში.

აზოტის წყაროდ, რომელიც აუცილებელია ცილის სინთეზისათვის, ნუკლეინის მჟავას და სხვა აზოტშემცველი ნაერთების შენებისათვის, წარმოადგენს ორგანული ნაერთების აზოტი, რომელსაც მოიხმარს მიკროორგანიზმი თავისი ფერმენტების დახმარებით.

საკვები ნიადაგი ასევე უნდა შეიცავდეს მაკრო- და მიკრო-ელემენტებს, რომელთა მოხმარება უმნიშვნელოა, მაგრამ მათ გარეშე მიკროორგანიზმების ზრდა შეჩერებულია, ან შეიძლება დაიღუპონ კიდეც.

საკვები ნიადაგი უნდა შეიცავდეს აგრეთვე ვიტამინებს, ზოგიერთი მათგანი შედის ფერმენტების შემადგენლობაში. ზოგიერთი ვიტამინის არარსებობა საკვებ ნიადაგში მნიშვნელოვნად თრგუნავს მის ზრდა-განვითარებას, როგორიცაა – ნიკოტინის მჟავა, თიამინი, რიბოფლავინი, ბიოტინი, პანტოგენის მჟავა და სხვ.

Temis mizani da amocanebi. თემის მიზანია დამზადდეს ახალი საკვები ნიადაგი მარცვლოვნებისაგან აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის. მარცვლოვანი კულტურები, რომლებიც გამოვიყენეთ საკვები არის დასამზადებლად, ხასიათდებიან ცილების არათანაბარი შემცველობით და მათში შეუცვლადი ამინომჟავების არსებობით; თუ სიმინდისა და ხორბლის მარცვალი შედარებით ღარიბია ცილებით და მცირე რაოდენობით შეიცავენ შეუცვლად ამინომჟავებს, სოიოს მარცვალი ამ მხრივ არის მეტად მდიდარი და ავსებს დეფიციტს, არსებულს ხორბალსა და სიმინდში, ხოლო სიმინდისა და ხორბლის ნახშირწყლები მეტი სრულფასოვნებით

გამოირჩევა და ავსებენ სოიოს ყუათიანობას. არააზოტოვანი ექსტრაქტული ნაერთები სიმინდის მარცვალსა და ხორბლის მარცვალში გაცილებით მეტია, ვიდრე სოიოს მარცვალში, ასე მაგალითად: თუ სიმინდისა და ხორბლის მარცვალში არააზოტოვანი ექსტრაქტული ნაერთები არის 66,1 და 66,8%, შესაბამისად, სოიოს მარცვალში იგივე ნაერთები 27,6%-ია, ხოლო ცილები სიმინდისა და ხორბლის მარცვალში არის 5,3 და 13,0% შესაბამისად, სოიოს მარცვალში კი – 28%.

თემის სიახლე და აქტუალობა. თემის სიახლედ უნდა ჩაითვალოს ის, რომ საკვები ნიადაგის შემადგენელი ნაწილი, მარცვლოვნების სამივე კულტურა ერთად აქამდე წარმოდგენილი არ ყოფილა და ამ შეერთებით მივიღეთ არა მექანიკური შერევა, არამედ თვისობრივად ახალი არე, რომელშიც ერთმანეთს ავსებენ ცილები, ცხიმები, არააზოტოვანი ექსტრაქტული ნივთიერებები, მინერალური ნივთიერებები, ვიტამინები და სხვ., ხოლო მცენარეული სუბსტრატისაგან დამზადებული საკვები არე, რომელიც არ შეიცავს ხორცის, ღვიძლის ნახარშს, პეპტონს და სხვა ძვირად ღირებულ კომპონენტებს, ეკონომიკური თვალსაზრისით მეტად ღირებულია, მითუმეტეს ამ ნიადაგზე გაზრდილი ნებისმიერი ბაქტერიული კულტურა აგროვებს საკმარისი რაოდენობის ბიომასას, რომელიც არ ჩამოუვარდება ხორცის წვენზე დამზადებულ საკვებ არეებს, გარდა ამისა, ახალ საკვებ ნიადაგზე გაზრდილი კულტურები ინარჩუნებენ ყველა თავის ბიოლოგიურ თვისებებს, რაც მთავარია ვირულენტობას და ანტიგენობას.

ახალ საკვებ ნიადაგზე შესაძლებელი გახდა ჩაგვეტარებინა ისეთი ცდები, რომლებიც მოითხოვენ ამა თუ იმ ბაქტერიული კულტურის

ნიშან-თვისებების უცვლელად შენარჩუნებას, როგორიცაა კლოსტრიდიებისა და ეშერიხიების შეწყვილების ცდები, კლოსტრიდიებისა და სტაფილოკოკების შეწყვილების ცდები, მათგან მიღებული რეკომბინანტი კულტურებისაგან ვაქცინის დამზადება; ბაქტერიულ კულტურებზე გარემოს ფაქტორების და ანტისეპტიკური საშუალებების ზემოქმედება და სხვ. ჩატარებულმა ცდებმა დაგვარწმუნა, რომ მარცვლოვანებისაგან დამზადებული საკვები არე პასუხობს მოთხოვნებს და შეესაბამება სტანდარტებს.

კვლევის შედეგების პუბლიკაცია: სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი მასალები გამოქვეყნებულია შვიდ სამეცნიერო ნაშრომში.

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა: დისერტაციის ტექსტი შეიცავს კომპიუტერზე ნაბეჭდ 128 გვერდს და შედგება: შესავლის, ლიტერატურის მიმოხილვის, გამოკვლევის მასალებისა და მეთოდების, საკუთარი გამოკვლევის მონაცემების, მათი ანალიზის, დასკვნების, პრაქტიკული წინადადებებისა და გამოქვეყნებული ლიტერატურის სიისაგან.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. თხიერი საკვები არე აერობული და ფაკულტატური ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის

მიკროორგანიზმები სუნთქვის ხასიათის მიხედვით იყოფიან სამ ძირითად ჯუფად – აერობებად, ფაკულტატურ ანაერობებად და ანაერობებად. ობლიგატური აერობები – ეს ისეთი მიკროორგანიზმებია, რომლებიც ენერგიას ღებულობენ სუნთქვის შედეგად, ამიტომ საჭიროებენ ჟანგბადს; ფაკულტატური ანაერობები ვითარდებიან და იზრდებიან როგორც ჟანგბადიან, ისე უჟანგბადო არეში; ობლიგატურ ანაერობებს შეუძლიათ ზრდა-განვითარება მხოლოდ ისეთ არეში, სადაც ჟანგბადი არ არის.

აერობული მიკროორგანიზმების განმასხვავებელი თვისება ის არის, რომ კულტივირებისას საკვებ არეში წარმოქმნილი წყალბადის ზეჟანგი (H_2O_2) ინაქტივირდება ფერმენტ კატალაზათი, რომლის სინთეზის უნარიც აერობულ ბაქტერიებს გააჩნიათ, ანაერობული მიკროორგანიზმები ფერმენტ კატალაზას ვერ წარმოქმნიან, ამდენად, კულტივირებისას გამოყოფილი წყალბადის ზეჟანგი რჩება გაუნეიტრალებელი და ანაერობები იღუპებიან; ფაკულტატური ანაერობები კი, საჭიროებისდა მიხედვით წარმოქმნიან ფერმენტ კატალაზას როგორც აერობულ, ისე ანაერობულ პირობებში.

მიკრობიოლოგიის მეცნიერებად ჩამოყალიბების დასაწყისში **ლ. პასტერი** და **რ. კოხი** იყენებდნენ საკვებ ნიადაგებს პათოგენური მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის, **რ. კოხმა** პირველმა დაამზადა მყარი საკვები არე სუფთა კულტურების მისაღებად. მას შემდეგ

ვითარდება მიკრობიოლოგია და სულ უფრო მდიდრდება საკვები ნიადაგებით, ვინაიდან ყოველი პათოგენი და არაპათოგენი მოითხოვს სპეციფიკურ მიდგომას, ზრდა-განვითარებისათვის ოპტიმალური პირობების შექმნას, რითაც მიკრობის ყოველი სახეობა უნდა ღებულობდეს იმ საკვებ ნივთიერებას, რაც საჭიროა მისი ნორმალური ზრდა-განვითარებისათვის, რომ მან სრულყოფილად დააგროვოს ბიომასა, მოახდინოს ტოქსინის ნორმალურ დონეზე პროდუცირება, შეინარჩუნოს ანტიგენობა, ჰემოლიზური აქტივობა, დამახასიათებელი მგრძნობელობა ან რეზისტენტობა ანტიბიოტიკების მიმართ, ნახშირ-წყლების დაშლის უნარი და სხვ.

მიკრობების ზრდა-გამრავლებისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს ტემპერატურას. ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მიხედვით მიკრო-ორგანიზმები იყოფიან – ფსიქროფილებად (დაბალი ტემპერატურის მოყვარულები), მეზოფილებად (საშუალო ტემპერატურის მოყვარუ-ლები), თერმოფილებად (სითბოს მოყვარულები) (**Фробишер Т.**, 1967; **Дараселия Г.Я.**, 2005).

მიკრობების ცხოველმყოფელობისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს აგრეთვე გარემო არის pH-ს. მიკრობის თითოეულ სახეობას გამოუმუ-შავდა, განვითარების პროცესში, pH-ის განსაზღვრულ მნიშვნელობასთან შეგუება, რის მიღმაც მათ არსებობა არ შეუძლიათ (**Селибер Г.Л.**, 1962; **Роуз Э.**, 1971).

თხიერი ნიადაგებიდან უნივერსალურს მიეკუთვნება ხორც-პეპტო-ნიანი ბულიონი, რომელიც შეიცავს ნივთიერებებს, რომელთა შემად-გენლობაში იზრდება პათოგენური და არაპათოგენური ბაქტერიების მრავალი სახეობა.

თხიერი ნიადაგები ფართოდ გამოიყენება იმისათვის, რომ გავიგოთ ფიზიოლოგო-ბიოქიმიური თავისებურებები ბაქტერიების, მათი ბიომასის დასაგროვებლად ან ნივთიერებათა ცვლის პროდუქტების, ასევე მრავალი სახეობის მიკრობის შესანახად დიდი ხნის მანძილზე, რომლებიც ცუდად იზრდებიან მყარ საკვებ არეებზე (**Мейнелл Дж., Мейнелл Э.**, 1867; **Дараселия Г.Я.**, 2004).

საკვები ნიადაგები იყოფა, როგორც უკვე ვთქვით, უნივერსალურებად, რომლებზეც იზრდებიან მრავალი სახეობის ბაქტერიები; სადიფერენციაციო, რომელიც იძლევა საშუალებას განვასხვავოთ ერთი სახეობის მიკრობი მეორისაგან; ელექტური და გამდიდრებული ნიადაგები, რომლებიც ხელსაყრელ პირობებს ქმნიან ერთი სახეობის მიკრობისათვის და თრგუნავენ მეორე სახეობის მიკრობს; სპეციალური, რომლებიც ოპტიმალურ პირობებს უქმნიან მიკრობის ამა თუ იმ სახეობას და თრგუნავენ მეორის ზრდა-გამრავლებას; ბევრი საკვები ნიადაგისათვის ძირითადია ხორცის წვენი, რომელსაც ამზადებენ ახალი ძროხისა და ცხენის ხორცისაგან, უმჯობესია ხბოს ხორცის წვენი. ხორცს აცლიან ძვლებს, ქონს, მყესებს, ფასციას და გაატარებენ ხორცსაკეპში, დაუმატებენ ორმაგი მოცულობის წყალს და აჩერებენ 4–6^0 10–12 საათით. შემდეგ ციკლი მოიცავს ხარშვას, გაფილტვრას და სტერილიზებას.

ხორცპეპტონიანი ბულიონი – ხორცის წვენს ემატება პეპტონი 1% და NaCl – 0,5%; ეს ინგრედიენტები ემატება გაცხელებული, 40^0 დაყვანის შემდეგ საზღვრავენ pH-ს, 10%-იანი ნატრიუმის ტუტის დამატების შემდეგ სტერილიზაცია და ჩამოსხმა.

ხოტინგერის წვენის დამზადება დაფუძნებულია ხორცის ცილების ჰიდროლიზზე, ხორცის წვენთან შედარებით ის შეიცავს პეპტონების კონცენტრატს, პოლიპეპტიდებს და ამინომჟავებს. ამინური აზოტის შემცველობა უნდა იყოს 150–200 მგ% (**Пименова М.Р., Гречушкина Н.И., Азова Л.Г.**, 1971).

მარტენის ბულიონი შეიცავს ცილის დაშლის პროდუქტებს და წარმოადგენს ერთ-ერთ ძირითად საუკეთესო საკვებ ნიადაგს, მას აზავებენ ხორცის წვენით ისე, რომ ამინური აზოტის შემცველობა იყოს 100–150 მგ% (**Омелянский В.Л.**, 1970).

მრავალი ნიადაგია შემოთავაზებული, რომლებიც საფუარებისაგან შედგება. ორგანული ნაერთების შემცველობით არ ჩამოუვარდება ხორცის წვენს. ისინი შეიცავენ ფერმენტებს, რომლებიც შლიან ცილებს, შეუძლიათ აგრეთვე აუტოლიზი, რის შედეგადაც მათი კვებითი ღირებულება იზრდება, მათზე კარგად იზრდება ეშერიხიები, სალმონელები და სხვა ენტერობაქტერიები (**Работнова И.Л.**, 1966; **Романенко В.И., Кузнецова С.И.**, 1974; **Шлегель Г.**, 1987).

Виноградов И.Н. (1973) გვთავაზობს საკვები ნიადაგების შემდეგ კლასიფიკაციას, რომლებსაც იყენებენ დიაგნოსტიკისათვის: ა) ნიადაგები მიკრობთა კულტივირებისათვის: უნივერსალური, მარტივი და რთული სპეციალური ტოქსინის პროდუცირებისათვის; ბ) ნიადაგები მიკრობების გამოსაყოფად და დასაგროვებლად: მაკონსერვირებელი, გამამდიდრებელი და ელექტური; გ) ნიადაგები, რომლებიც გამოიყენება მიკრობთა იდენტიფიკაციისათვის: დიფერენციალური და ელექტურ-დიფერენციალური.

საკვები ნიადაგის მთავარი დანიშნულება ის არის, რომ ხელი შეუწყოს ზრდას და გამრავლებას. ბაქტერიების პოპულაციაში ყველა უჯრედი არ არის სიცოცხლისუნარიანი. ცოცხლად ითვლება ის ბაქტერიული უჯრედი, რომელსაც შეუძლია წარმოქმნას კოლონია აგარიზებულ ნიადაგზე, ან სუსპენზია თხიერ ნიადაგზე. ეს სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები ვლინდება სხვადასხვა მეთოდებით, მათ შორის ცოცხალი უჯრედების განსაზღვრის მეთოდით; ამასთან, კავშირშია ბაქტერიული მასის განსაზღვრა. რომ განვსაზღვროთ მასა, ამისათვის საჭიროა ავწონოთ ნაზარდი ან მშრალი ცენტრიფუგირე-ბული უჯრედები. ნივთიერებათა ცვლის ინტენსივობის განსაზღვრი-სათვის ან ფერმენტაციის აქტივობის დასადგენად მიმართავენ უჯრედში ცილის ან აზოტის შემცველობას. ე.ი. ამა თუ იმ საკვები ნიადაგის გამოყენება დაფუძნებულია პათოგენური მიკროორგანიზმების მიერ ფერმენტული სისტემის აქტივობაზე (**Ingzaham J.L.**, et al., 1983; **Malek I., Fend Z.**, 1966; **Schlegel H.G.**, 1965).

სპეციფიკური ფერმენტების ნაკრები განსაზღვრავს კვებისა და სუნთქვის ტიპს მიკრობული უჯრედის მიერ პლასტიკური და ენერგეტიკული ცვლის პროცესში. ამიტომ ნიადაგის შემადგენლობის განსაზღვრისას მხედველობაში იღებენ იმ ნივთიერებებს, რომელთაც მონაწილეობა უნდა მიიღონ უჯრედული ფერმენტების ბიოსინთეზში, ასევე ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების სინთეზში (**Nandelstan J.**, et al., 1982; **Starr M.P.**, et al., 1981; **Stouthamer A.M.**, 1977; **Veldkamp H.**, 1976).

პათოგენური მიკროორგანიზმებისათვის უნივერსალური წყარო აზოტისა და ნახშირბადის არის ცილის ჰიდროლიზატები, რომელიც შეიცავს ყველა ამინომჟავას და, ამასთან ერთად, პეპტიდებს და

პეპტონებს. ამინომჟავების მრავალმხრივი ფუნქციის გათვალისწინებით მხედველობაშია მისაღები აგრეთვე ცვლადი ამინომჟავების შემცველობაც ჰიდროლიზატში, ხოლო პეპტიდ-პეპტონის ფრაქციის შემცველობა განსაზღვრავს გადამწყვეტ როლს ტოქსინის პროდუცირების პროცესში (**Gottschalk G.**, 1979; **Gottschalk G.**, 1981; **Gursalus I.C., Stanier R.K.**, 1961, 1962; **Inglenew W.V., Poole R.K.**, 1984; **Jones C.W.**, 1982; **Karlson P.**, 1984; **Leninger A.L.**, 1975; **Mahler H.R., Cordes E.H.**, 1971; **Morris J.G.**, 1974; **Strier L.**, 1981).

უნივერსალური წყარო ზრდის ფაქტორებისა, როგორიცაა ვიტამინები და მიკროელემენტები, რომელიც საჭიროა ფერმენტების ბიოსინთეზისათვის, არის ექსტრაქტები ცხოველური და მცენარეული ცილების და ჰიდროლიზატები. ამის გამო ხორც-პეპტონიანი წვენი და სხვა ჰიდროლიზური არეები, რომელიც შეიცავს პეპტონს და ხორცის წვენს, გამოდგება უმრავლესი პათოგენური ბაქტერიების კულტივირებისათვის (**Casida L.E.**, 1968; **Nelson K.H., Hastings J.W.**, 1979; **Reed G.**, 1982; **Rehm H.J.**, 1971, 1980; **Ziegler M.M., Baldkin T.O.**, 1981).

ის მიკრობები, რომლებიც უფრო მომთხოვნი არიან საკვებ ნიადაგებზე, რომლებსაც არ შეუძლიათ ფერმენტული სისტემის სინთეზი, რომელიც უნდა იყოს ნიადაგში, ნივთიერებები მსგავსი ვიტამინებისა, რომელიც საჭიროა ენზიმების ბიოსინთეზისათვის, თითქმის დაუშლელი ფერმენტები, რომლებსაც შეიცავს ნატიური ბუნებრივი ცილების სუბსტრატები, ამ შემთხვევაში ხორც-პეპტონიანი ნიადაგები, წარმოადგენენ იმ არეს, რომელშიც შეიძლება შევიტანოთ ახალი სისხლი, შრატი, ასციტური სითხე; კვერცხის გული, თირკმლების ნაჭრები და სხვ. (**Iversoh W.P.**, 1974; **Posthate J.R.**, 1984; **Thaner R.K.**, 1984).

ამასთან ერთად, ნიადაგის ოპტიმალური შემადგენლობა შეესაბამება საკვები ნივთიერებების დაბალანსებულ შემადგენლობას, როგორსაც მოითხოვს მიკრობული უჯრედი. რომ უზრუნველვყოთ ბაქტერიული უჯრედის ზრდა და გამრავლება, საკვებ ნიადაგს ემატება სხვადასხვა ნახშირწყლები, როგორც ენერგიის წყარო, მინერალური მარილები, ფოსფატები, ცალკეული ამინმჟავები, ვიტამინები და სხვა ქიმიური შემადგენლობის ნივთიერებები, რომლებიც არიან ზრდის ინჰიბიტორები და აგვაცილებს მათ მოქმედებას (**Виноградов И.Н.**, 1973).

ამგვარად, საკვები ნიადაგები, რომლებსაც ვიყენებთ პათოგენური მიკროორგანიზმების დიაგნოსტიკისათვის, გამოირჩევიან შედარებით მცირერიცხოვანი დასახელებით, ეს არის ხორც-პეპტონიანი ბულიონი და აგარი, ხორცისა და კაზეინის ჰიდროლიზატები, ზოგიერთი სხვა ჰიდროლიზატი.

2.2. მყარი საკვები არე აერობული და ფაკულტატური ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის

რ. კოხის დამსახურებაა მიკრობთა სუფთა კულტურების მიღების მეთოდი მყარ საკვებ ნიადაგებზე, ამავე დროს შეიძლება კოლონიების მიხედვით მათი დიფერენცირება; კოლონიების მორფოლოგია შესაძ-ლებლობას იძლევა გამოვიყენოთ მიკრობის თვისება დიაგნოსტიკური მიზნით (იზოლირებული კოლონიების მიღება, მათი მორფოლოგიის დადგენა, დაირიბებულ აგარზე ზრდის თავისებურებანი და სხვ. მყარ ნიადაგებზე ნაზარდი შეიძლება გამოვიყენოთ კულტურების შესანახად,

მიკრობების რაოდენობრივი აღრიცხვისათვის, მათი ანტაგონისტური თვისდებების დასადგენად და სხვ.

ნიადაგის გასამყარებლად იყენებენ აგარ-აგარს, ჟელატინს, სილიკაგელს. აგარ-აგარს იყენებენ განსაკუთრებით ხშირად. ის წარმოადგენს პოლისაქარიდს, რომელსაც ღებულობენ ზღვის ზოგიერთი წყალმცენარეებისაგან. მათი გამოშვება ხდება ფირფიტებისა და ფხვნილის სახით. აგარ-აგარი მოსახერხებელია იმით, რომ მიკროორგანიზმების უმრავლესობა არ იყენებს მას, როგორც საკვებ სუბსტრატს. წყალში აგარ-აგარი ღებულობს გელის ფორმას, რომელიც ლღვება 100^0-ზე, მყარდება 40^0 ტემპერატურაზე. ამდენად, აგარიზებულ ნიადაგებზე შეიძლება თითქმის ყველა სახეობის მიკრობის კულტივირება. გაციების დროს აგარი გამოყოფს კონდენსატს ანუ წყალს, რაც უფრო ნაკლებია აგარის კონცენტრაცია, მით მეტი წყალი გამოიყოფა (**Егоров Н.С.**, 1976).

აგარ-აგარს უმატებენ ნიადაგს 2% რაოდენობას, თუ უნდათ უფრო ტენიანი ნიადაგი მიიღონ, უმატებენ 1,5%-ის რაოდენობით, ხოლო თუ უფრო მშრალი და მყარი – 3%.

ჟელატინს ღებულობენ ძვლების და მყესების ხანგრძლივი ხარშვით, ის ცილაა, წარმოქმნილი ჟელატინის გელი ლღვება 23–26^0C-ზე, რომელიც დაბლაა მრავალი მიკროორგანიზმების ინკუბაციის ტემპერატურაზე (30–37^0C). გარდა ამისა, ჟელატინი ლღვება მრავალი მიკრობის პროტეოლიზური ფერმენტების მოქმედებით, რომელსაც ისინი გამოყოფენ საკვებ არეში. ეს თვისება მათ გამოყენებას ზღუდავს. ჟელატინს იყენებენ უმთავრესად პროტეოლიზური თვისებების გამოსავლენად (**Егоров Н.С.**, 1976).

სილიკაგელს იყენებენ, როგორც მყარ საწყისს სინთეტიკური ნიადაგებისათვის, რომელთაც განსაზღვრული შემადგენლობა აქვთ, ვინაიდან ის წარმოადგენს არაორგანულ ნაერთს (**Егоров Н.С.**, 1976).

აერობებისა და ფაკულტატური ანაერობებისათვის გამოიყენება უმთავრესად ხორც-პეპტონიანი აგარი, ხორც-პეპტონიანი აგარი სისხლით, გლუკოზიანი აგარი, მარტენის აგარი, საფუარის აგარი, გლუკოზიან-შრატიანი აგარი, ღვიძლის ნახარშის აგარი, კარტოფილის აგარი, ღვიძლიან-შრატიანი აგარი, ღვიძლიან-ამიდოპეპტიდური აგარი, შრატიანი ხორც-პეპტონიანი აგარი და მრავალი სხვა (**Андросов Ф.З., Белзев И.Я., Клочко Р.Т., Антонов В.Я.**, 1981; **Егоров Н.С.**, 1964; **Работнова И.Л.**, 1966; **Романенко В.И., Кузнецов С.И.**, 1974; **Розанов Н.И.**, 1952).

2.3. თხიერი საკვები არე ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის

თხიერი საკვები ნიადაგები, რომლებიც გამოიყენება ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის, სტერილიზაციამდე შეაქვთ ვაზელინის ან პარაფინის ზეთი 5–8 მმ სისქით, რომელიც გვარიდებს ატმოსფეროს ჰაერის მოხვედრას საკვებ ნიადაგში. ჩათესვის წინ საკვებ ნიადაგს ადუღებენ 10–15 წუთის განმავლობაში, იმ მიზნით, რომ გამოიდევნოს გახსნილი ჟანგბადი. დუღილის შემდეგ მას სწრაფად აცივებენ და ჩათესავენ შესაბამის ანაერობულ კულტურას ან სადიაგნოსტიკო მასალას. ანაერობების კულტივირებისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს სინჯარის დიამეტერს და ჩასხმული ნიადაგის რაოდენობას. სინჯარა უნდა იყოს მცირე დიამეტრის, ხოლო ჩასხმული ნიადაგი კი მაღალი სვეტით, რაზეც შემდეგში შეაქვთ ვაზელინის ან

პარაფინის ზეთი. ამ დროს სინჯარის ფსკერზე იქმნება ანაერობული პირობები, რაც საჭიროა პირველი 3–4 საათის განმავლობაში. ჟანგბადის რედუქციისა და აბსორბციისათვის თხიერ საკვებ არეში, სტერილიზაციამდე შეაქვთ ღვიძლის ნაჭრები, შეიძლება აგრეთვე ელენთის, კუნთოვანი ქსოვილის, ტვინის, კვერცხის ცილის, კარტოფილის ნაჭრები, ბამბის ფთილა.

ანაერობული პირობები შეიძლება შევქმნათ ნიადაგში ნახშირწყლების შეტანით (გლუკოზა, რძის შაქარი და სხვ). ანაერობები ზრდის პროცესში შლიან ამ ნაერთებს და იქმნება არეში ხელშემწყობი პირობები (**Минкевич И.Е.**, 1938; **Муромцев С.Н.**, 1930; **Нечаевская М.Р., Старобанец Г.М.**, 1935; **Чельный А., Муромцев С.**, 1928; **Козлов Ю.А.**, 1950; **Коваленко Я.Р.**, 1948; **Глотова Е.В., Вахтмистрова Е.В.**, 1930; **Вальтер О.А.**, 1932; **Бабич М.А.**, 1940; **Клейн Б.И.**, 1943).

ანაერობების კულტივირებისათვის ფართოდ იყენებენ ცისტეინს, რომლის დამატების შემდეგ არ არის საჭირო ჰაერის მოცილება. ცისტეინი და ცისტინი გამოირჩევიან გაცხელებისადმი მდგრადობით და არ კარგავენ კატალიზურ თვისებას სტერილიზაციის შემდეგ. ოპტიმალურ კატალიზურ თვისებებს ცისტინი და ცისტეინი ავლენენ, როდესაც ნიადაგის pH=7,2–7,6. მოხარშული კუნთოვანი ქსოვილი, ღვიძლი წარმოადგენს ასეთსავე აქტიურ კატალიზატორს, ასევე მოხარშული კვერცხის ცილა (**Глотова Е.В.**, 1935; **Захарина Д.И.**, 1944; **Космодеизнский Б.Н.** и др., 1941; **Кузин А.М.**, 1946; **Мисловацер Е.**, 1932; **Глузман М.Р.** и др., 1935; **Макарова-Тарасевич Ю.И.**, 1934; **Ген Э.Ю.**, 1924; **Миронов С.**, 1930; **Львов В.М.**, 1951; **Guclin A.**, 1937; **Koschucharoff A.**, 1937; **Murray Y.C.**, 1944; **Brison J.**, 1950; **Brison J., Babin L.**, 1950; **Wakamotsu I.**, 1934; **Murray P.**, 1936; **Patocka F.**, 1936; **Riemsdijk M.**, 1939; **Roots D.E.**, 1943; **Schmist E.**, 1933; **Sedallion P.**, et al., 1949; **Sprai R.C.**, 1936; **Hastings A.**, 1932).

ძირითადი თხიერი ნიადაგი, რომელსაც ფართოდ იყენებენ ანაერობების კულტივირებისათვის, არის ხორც-პეპტონიანი ღვიძლის წვენი, ღვიძლის ნაჭრებით ან ხორცის დაკეპილი მასა. ამ ინგრედიენტების აღმდგენელის თვისების გამო მათზე შეიძლება ნებისმიერი ობლიგატური ანაერობული მიკროორგანიზმის კულტივირება. ამ ნიადაგებზე შეიძლება კულტივირება იმ მიკროორგანიზმების, რომლისგანაც მზადდება ვაქცინები ან ანტიგენები. ზრდა ამ ნიადაგზე ხდება სწრაფად, დიდი რაოდენობის ბიომასის დაგროვებით, რაც შედეგია ღვიძლის, ხორცის როგორც აღმდგენელის თვისებების.

ობლიგატური ანაერობების კულტივირებისათვის რეკომენდებულია საკვებ არეში ემბრიონული ექსტრაქტის ან ემბრიონული უჯრედების შეტანა, რომლებიც ზრდის სტიმულს აძლევენ ანაერობულ მიკრობებს. ანაერობების ზრდა ამ ნიადაგებზე უფრო უხვია, ვიდრე ხორც-პეპტონიან ღვიძლის წვენში. ემბრიონული ექსტრაქტი ან ემბრიონული უჯრედები, თავისი რედუქციული თვისებების წყალობით ყველაზე მომთხოვნ ანაერობებსაც კი აკმაყოფილებენ (**Коваленко О.Р.**, 1954; **Пономарев А.В., Павлова Г.А.**, 1931; **Синай Г.Я., Биргер С.Г.**, 1949; **Омелянсктй В.А.**, 1929; **Stadler P., Miessner S.**, 1935; **Prevot A.**, 1846).

გარდა აღნიშნული ნიადაგებისა, წარმატებით გამოიყენება მარტენის წვენი, სისხლიანი ბულიონი, გაშეშების ტოქსინის მისაღები ნიადაგი, ხორც-პეპტონიან ჩვეულებრივ წვენს დამატებული კვერცხის ცილა (შეაქვთ სინჯარის ფსკერზე 3–5 გ რაოდენობით), თხიერი კვერცხიანი ნიადაგი, ტუტე კვერცხიანი ნიადაგი, ხოტინგერის წვენი, ვრუბლევსკის ნიადაგი, ბერგის ნიადაგი, კეინბერგის ნიადაგი, ტრიპსინით დაშლილი კაზეინის ნიადაგი, რობინსონ-სტოვალის ნიადაგი, რიდი და ორრ-ის ნიადაგი, დერნბი და ალლანდერის ნიადაგი, სორდელის და ფერრარის ნიადაგი, ვალბუმის და რეიმანის ნიადაგი, გლუზმანის, ჩერვიაკოვის და სკარობინეცის ნიადაგი, განსდმაიჰერის ნიადაგი, რამონის ნიადაგი,

ზიამონის, ლეგარის, ტრეველ და სეკონდის ნიადაგი, B.oedematiens-ის და B.histoleticus-ის ტოქსინის მისაღები ნიადაგი, Vibrion septique-ს ტოქსინის მისაღები ნიადაგი, ბოტულინის ტოქსინის მისაღები ნიადაგი (**Коваленко Я.Р.**, 1948; **Макарова-Тарасевич Ю.Н.**, 1934; **Scott, Brandly C.**, 1933; **Celarek I., Stetkiewier,** 1936; **Kelarek I., Feigin B.**, 1937; **Frei N.**, 1934; **Zeissller I.**, 1934).

2.4. მყარი საკვები არე ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის

მიკროორგანიზმებს, რომელთაც შეუძლიათ გამოიყენონ ჟანგვის პროცესისთვის არა მარტო თავისუფალი ჟანგბადი, არამედ შეჭიდულ მდგომარეობაში მყოფი ჟანგბადი დაჟანგული ნაერთებიდან, რომლებიც შემდგომში გადადიან აღდგენილ მდგომარეობაში, მიეკუთვნებიან ანაერობებს. მიკროორგანიზმების თვისება გადაიტანონ წყალბადი ნიტრატებზე ან სულფატებზე, განსაზღვრავს სრულ დაჟანგვას ორგანული ნაერთებისას, მოლეკულური ჟანგბადის გამოუყენებლად და განაპირობებს მათ მიერ დაბალი ენერგიის მიღებას, ვიდრე დუღილის შემთხვევაში. ამ მიკროორგანიზმებს გააჩნიათ ფერმენტები, რომელიც საჭიროა სუნთქვისათვის.

მიკროორგანიზმები, რომელთაც შეუძლიათ სუნთქვა ნიტრატების საშუალებით, წარმოადგენენ ფაკულტატურ ანაერობებს და მიეკუთვნებიან ძირითადად Pseudomonas და Bacillus-ს სახეობებს, ხოლო მიკროორგანიზმები, რომლებიც სუნთქვის პროცესისათვის იყენებენ მხოლოდ სულფატებს, წარმოადგენენ ანაერობებს და მიეკუთვნებიან Desulfovibrio და Desulfotomaculum.

მიკროორგანიზმებს სუნთქვას და კვებას ახორციელებენ ფერმენტების საშუალებით. ისინი ბიოლოგიური კატალიზატორებია, რომლებიც უარყოფით ქიმიურ რეაქციებს ახორციელებენ, რისგანაც, საბოლოო ჯამში ვღებულობთ ნივთიერებათა ცვლას. თანამედროვე კლასიფიკაციით ფერმენტები იყოფა ექვს ძირითად კლასად – ოქსიდორედუქტაზური, რომლებიც ჟანგვა-აღდგენითი რეაქციების კატალიზატორები არიან; ტრანსფერაზები არიან კატალიზატორები ცალკეული რადიკალების გადატანაში, მოლეკულების ან მოლეკულების ნაწილის ერთი ნაერთიდან მეორეში; ჰიდროლაზები, ისინი მონაწილეობენ გახლეჩვის და სინთეზის რეაქციებში ისეთი რთული ნაერთების, როგორიცაა ცილები, ცხიმები, ნახშირწყლები წყლის მონაწილეობით; ლიაზები, რომლებიც მონაწილეობენ კატალიზში სუბსტრაქტებიდან ამა თუ იმ ჯგუფების წართმევაში, რა დროსაც წარმოიქმნება ორმაგი კავშირები ან მიერთება ცალკეული ჯგუფებისა ან რადიკალების ორმაგ კავშირებთან; იზომერაზები ფერმენტებია, რომლებიც ახორციელებენ კატალიზის პროცესს ორგანული ნაერთების გარდაქმნაში მათ იზომერებად; ლიგაზები ფერმენტებია, რომლებიც ახორციელებენ კატალიზის პროცესს რთული ორგანული ნაერთების სინთეზისას მარტივი ნაერთებიდან.

ყველა სახეები ნიადაგის და მათ შორის მყარის, დაფუძნებულია ფერმენტების კატალიზურ მოქმედებაზე, რის შედეგადაც შემოთავაზებულია მრავალი მყარი ნიადაგი, როგორიცაა: სისხლიან-შაქრიანი აგარი, აგარი სისხლით, შაქრიანი აგარი ვეიონის, შრატიანი აგარი, ნახევართხიერი აგარი ანაერობებისათვის, ვილსონ-ბლერის ნიადაგი, გიზლერის ტვინიანი ნიადაგი და სხვ.

ზრდის ხარისხის მიხედვით ცეისლერი იძლევა სისხლიან-შაქრიან აგარზე 10 ფორმას, რომელთაგან აღვწერთ მხოლოდ რამდენიმეს: ზრდის ფორმა 1 – ფოლაქისმაგვარი, ამობურცული კოლონიები, მწვანე, მბზინავი ფერის კოლონიები, რომლებიც შემოსაზღვრულია

ჰემოლიზის გაუმჭვირვალე ზონით, რომელიც წარმოიქმნება პროტეოლიზური ფერმენტის და ჰემოტოქსინის მოქმედებით; ეს ფორმა დამახასიათებელია Cl.perfringens-ისათვის

ზრდის ფორმა II – კოლონიები მრგვალია ან უფერო, ნაზი რუხი ფერის; ძლიერი, გამჭვირვალე ჰემოლიზი; დამახასიათებელია Cl.oedematiens-ისთვის, Cl.botulinus-ისთვის, Cl.gigas-თვის.

ზრდის ფორმა III დამახასიათებელია Cl.septicum-ისთვის და Cl.tetani-სთვის – ვუალისებური, დაკბილული კიდეებით, ხშირად ნაზი წანაზარდის მქონე კოლონიები, სუსტი ჰემოლიზით.

ზრდის ფორმა IV-ისათვის დამახასიათებელია მინანქრისფერი ფოლაქების ან ფოთლის მსგავსი კოლონიები, რომელთაც ცენტრში აქვთ გორაკისებური ამაღლება, ნაზი-იისფერი შეფერილობით, უმნიშვნელო ჰემოლიზი; ასეთი კოლონიები დამახასიათებელია Cl.chauvoei-სათვის.

ზრდის ფორმა VI-ისათვის დამახასიათებელია ბლანტი, ზოგჯერ მეჭეჭისმაგვარი, თეთრი ან ყვითელი, გაუმჭვირვალე კოლონიები, რომლის გარშემო შემოზღუდული, მაგრამ ინტენსიური ჰემოლიზია; ასეთი კოლონიები დამახასიათებელია Cl.sporogenes-ისათვის.

ზრდის ფორმა VIII დამახასიათებელია Cl.histoliticus-ისათვის და Cl.tetani-სათვის, კოლონიები მრგვალია, ბრტყელი, სწორი კიდეებით, ძალიან მცირე ზომის (**Коваленко Я.Р.**, 1954; **Абдулин Х.Х., Кибалкина В.П.**, 1952; **Акопян Е.Ш.**, 1952; **Базилевский В., Мельник В.**, 1935; **Бурнос Е.О.**, 1940; **Ваксман З.А.**, 1947; **Глотова Е.В., Гродко Н.С.**, 1935; **Гродко Н.С.**, 1940; **Доценк П.С.**, 1935; **Земсков М.В.**, 1938; **Калина Г.П.**, 1952; **Калина Г.П.**, 1949; **Карпов М.К.**, 1953; **Коваленко Я.Р.**, 1952; **Колесникова М.К.**, 1937; **Коссовский А.С.**, 1935; **Островская О.А.**, 1933; **Сотская З.А.,** 1936; **Тимаков В.Д.**, 1952; **Alden R.**, 1934; **Guillaumie M.** et al., 1948; **Guellin**

A., 1950; **Colef J.**, 1935; **Habst H., Mohr W.**, 1935; **Hoyt A.**, 1935; **Otr F.H.**, 1933; **Livegu B.**, 1933; **Spray S.**, 1933; **Weinberg M., Nativelle R.**, 1937).

2.5. მცენარეული სუბსტრატისაგან დამზადებული საკვები ნიადაგები

ვინაიდან ცხოველური წარმოშობის ნედლეულზე დამზადებული საკვები არეები ძალიან ძვირი ჯდება, ხოლო მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის, დაავადებების სადიაგნოსტიკოდ, მეცნიერული კვლევებისათვის ასეთი ნედლეული ძალიან დიდი რაოდენობით იხარჯება, მეცნიერები მიიყვანა იმ აზრამდე, რომ საჭირო იყო მცენარეული სუბსტრატის გამოყენება იმავე მიზნებისათვის; ბიოლოგიური მრეწველობაც დიდი რაოდენობით მოიხმარს ხორცს, ღვიძლს, პეპტონს, რაც ნებისმიერ სახელმწიფოს დიდი თანხები უჯდება. ისეთი ნედლეულის მოძიება, რომელიც ამ თანხებს შეამცირებს, ხოლო შედეგი იქნება იგივე – ბიომასის დაგროვება, პათოგენობა, ანტიგენობა, ბიოქიმიური აქტივობა და სხვა ფრიად მნიშვნელოვანია.

მეცნიერებმა შეამჩნიეს, რომ სოიოს, ხორბლის, სიმინდის, ტუნგოს, სოკოს ანარჩენების, ლობიოს ჩენჩოს და სხვათა გამოყენება წარმატებით შეიძლება და შესაძლებელია შეიცვალოს ძვირად ღირებული ცხოველური წარმოშობის ნედლეული – ხორცი, ღვიძლი, პეპტონი, ნაკლებ ღირებული მცენარეული წარმოშობის ნედლეულით.

სოიოს პარკებიდან დამზადებული საკვები არე საუკეთესოა მრავალი სახეობის მიკრობებისათვის (**L. Vitale**, 1928).

საკვები არე ხორბლის ქატოსაგან და სოიოს პარკისაგან დამზადდა (**Матвеевский Б.Г.**, 1931) და საუკეთესო შედეგები იქნა მიღებული.

საკვები არე დამზადდა აგრეთვე საკვები თალგამიდან (**Кеменецкий И.И.**, 1932); საკვები არე სოიოს რძისა და ზეთის გადამუშავების შედეგად მიღებული ნარჩენებისაგან, აგრეთვე სოიოს ნაყენი, ექსტრაქტი, კოპტონი და შრატი (**Попова Н.Н.**, 1939).

სოიოს, ლობიოს, შვრიის, ხორბლის მარცვლები შეიცავენ ყველა აუცილებელ საკვებ ნივთიერებებს მიკრობთა ზრდა-განვითარებისათვის (**Риховский В.И.**, 1934); აგარი, დამზადებული ლობიოს ბულიონზე, უკეთესი არე აღმოჩნდა, ვიდრე ხპა (**Барнас М.**, 1935).

პათოგენური ანაერობების კულტივირებისათვის გამოიცადა სოიოს საკვები არეები, მათ არ განუცდიათ რაიმე მორფოლოგიური ცვლილებები, ინარჩუნებდნენ ყველა ბიოლოგიურ თვისებას (**Беленкий Е.Д., Макарова Б.Л.**, 1935); სავაქცინე შტამების კულტივირებისთვის გამოსცადეს მცენარეული საკვები არეები – აგარი, ბულიონი, ფერადი არეები; ნიშან-თვისებები სტაბილური იყო (**Шеремет П.Т.**, 1936); ხოტინგერის მეთოდით დამზადდა საკვები არეები (მუხუდო, ცერცვი, ბარდა, ლობიო, შვრია), რომელზეც პარატიფისა და დიზენტერიის ჯგუფის მიკრობები იზრდებოდნენ ისევე, როგორც ხორცზე დამზადებულ საკვებ ნიადაგზე. შენახვის ხანგრძლივობა არ ცვლიდა მიკრობების ბიოლოგიურ თვისებებს (**Яременко В.И.**, 1937); საკვები არეების დასამზადებლად გამოყენებული იქნა ისპანახის ფოთლები და მათგან ამზადებდნენ აგარს და ბულიონს, ეს ნიადაგები ვარგისი აღმოჩნდა აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის (**Безредка А.М., Саламян Е.**, 1933); ხოტინგერის მეთოდით დამზადდა საკვები არეები თეთრი სოკოს, მუხუდოს, ცერცვის და ბარდას ნარევისაგან (**Яременко В.Г.**, 1939).

მიკრობთა კულტურები, რომლებიც იზრდებოდნენ საფუარის აგარზე, უფრო ეფექტური აღმოჩნდა ხორც-პეპტონიან აგართან შედარებით. ეს კულტურები გამოყენებულ იქნა ვაქცინების დასამზადებლად (**Шевченко Ф.И.**, 1939).

სიმინდის ექსტრაქტს იყენებენ როგორც ამინომჟავებისა და ვიტამინების წყაროს; ის შეიცავს აგრეთვე დიდი რაოდენობით ორგანულ მცენარეებს – რძის მჟავას, ძმარმჟავას, ჭიანჭველის მჟავას და მრავალ ელემენტს. სიმინდის ექტრაქტი – უკვე მზა პროდუქტია, რომელსაც უშვებენ სახამებლის ქარხნები. ნიადაგში შეაქვთ 0,5–4% ექსტრაქტისა, რომელიც დამოკიდებულია მიკრობის მოთხოვნებზე (**Работнова И.А., 1966; Егорова Н.С.**, 1964; **Романенко В.М., Кузнецов С.И.**, 1974).

საფუარის არეები გამოყენებულ იქნა ანაერობების კულტივირებისათვის, მისი დამზადებისათვის მიმართეს აუტოლიზის მეთოდს; საუკეთესო აღმოჩნდა არე, დამზადებული 65^0-ზე ორი დღის აუტოლიზით (**Колачева Л.А., Гейлер С.И.**, 1944).

კარგი შედეგები აჩვენა წიწვიანი ხეებიდან დამზადებულმა არეებმა (**Коломейнов Л.З., Мар Г.И.**, 1946); ასევე დამაკმაყოფილებელი თვისებებით ხასიათდებოდა საკვები არე, რომელიც დამზადდა ბარდისაგან (**Ханин С.Г., Кобашева Е.Н., Травич В.С.**, 1946).

დამზადდა საკვები არე ხორბლის ქატოს ექსტრაქტისაგან, რომელზეც კარგად იზრდებოდა აერობული მიკროორგანიზმები (**Северин В.А.**, 1946).

ფერმენტული ჰიდროლიზით დამუშავდა ბამბის კოპტონი, რომელიც გამოიყენეს საკვები არის დასამზადებლად; პარატიფოზული და დიზენტერიის მიკრობები მასზე ინარჩუნებდნენ ყველა ძირითად ბიოლოგიურ თვისებებს (**Мерчамович М.И., Леонова И.А.** и др., 1949).

ცერცვისაგან დამზადდა თხევადი, ნახევრად თხევადი და მკვრივი საკვები არეები პეპტონით და უპეპტონოდ. ცერცვის ჰიდროლიზური

საკვები არე არ ჩამოუვარდება ხორცის საკვებ არეს. ზოგიერთი შტამები, რომლებიც ცუდად იზრდებოდნენ ხორციან არეზე, კარგად იზრდებოდნენ ცერცვის ჰიდროლიზის საკვებ არეში (**Бучнев В.Н.**, 1949, 1950).

ქერის, კარტოფილის, ხორბლის, შვრიის, ლობიოს, იონჯას თესლის, იონჯას თივის, სამყურას ყვავილებიდან დამზადდა საკვები არე, რომლის ყუათიანობა დამოკიდებულია არა საერთო აზოტის საერთო რაოდენობაზე, არამედ მასში ამინომჟავების შემადგენლობაზე (**Кузьмин Л.Д., Епифанова И.П.**, 1953).

სოიოს კოპტონიდან საკვებ არეში კულტურების 30-ჯერადი გადათესვა არ მოქმედებდა ზრდის ინტენსივობაზე და არც ცვლიდა მიკრობის თვისებებს (**Кузьмин Л.Д., Сузанов Н.П., Бережниой Н.Ф.,** 1955).

ი. ბარათაშვილმა, ი. ყურაშვილმა, თ. ტივიშვილმა (2002) სოკოს ანარჩენებისაგან შექმნეს თხევადი და მყარი საკვები არეები. მათი გამოყენება წარმოებდა ენტეროპათოგენური აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის.

ტუნგოს ანარჩენებისაგან დამზადებული საკვები არეები არ ჩამოუვარდება ხორცისა და ღვიძლის საკვებ არეებს, ამ ნიადაგებზე ანაერობული მიკროორგანიზმები იზრდებიან ინტენსიურად, ინარჩუნებენ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებებს (**მ. ჟვანია, ქ. მჭედლიძე**, 2002).

კარგი თვისებებით ხასიათდება ლობიოს ჩენჩოზე დამზადებული საკვები არე (**ზ. ქაფიაშვილი, ე. ბერიანიძე**, 2002).

2.6. საკვები ნიადაგები, რომლებიც გამოყენებულია ზოგიერთი დაავადების აღმძვრელის ბიოქიმიური აქტივობის დასადგენად და კულტივირებისათვის

მიკრობიოლოგიაში დიფერენციაციის მიზნით ბაქტერიების სახეობებისა და ტიპების დასადგენად ხშირად საჭიროა განისაზღვროს მათი შაქრების დაშლის უნარი, პროტეოლიზური თვისებები, ჰემოლიზური აქტივობა, საღებავების რედუქციის უნარი, აირების წარმოქმნა და სხვ. ამ თვისებების გამოსავლენად მიკრობებს ზრდიან სპეციალურ დიფერენციალურ-სადიაგნოსტიკო ნიადაგებზე.

ნიადაგებს, ნახშირწყლების ფერმენტაციის გასაგებად, ამზადებენ ფერადი ინდიკატორებით, სადაც უმატებენ სხვადასხვა პროცენტული რაოდენობით ამ ინგრედიენტებს. მაგ. ინდიკატორი ანდრედე, რომელიც შედგება მჟავა ფუქსინისაგან, მწვავე ნატრიუმისაგან, რომელიც გამოიყენება მჟავას წარმოქმნის დასადგენად, მზა საკვებ ნიადაგს ემატება ინდიკატორი რამდენიმე წვეთი 100 მლ-ზე; მჟავას წარმოქმნის შემთხვევაში ნიადაგი წითლდება.

ბრომტიმოლბლაუ (ინდიკატორი) – ბრომატი მოლბლაუ და მწვავე ნატრიუმი მთავარი შემადგენელი ნაწილია ფერადი ინდიკატორის, რომელსაც ნახშირწყლიან ნიადაგს უმატებენ 1–4% რაოდენობით.

გისის ნიადაგები ნახშირწყლებით – ამზადებენ ნიადაგში ამა თუ იმ ნახშირწყლის შეტანით და ინდიკატორ ანდრედეს დამატებით, ფერის და აირების წარმოქმნით ვიგებთ ამა თუ იმ ბაქტერიის სახეობას, თუ, რასაკვირველია, სხვა მონაცემებიც ემთხვევა.

ბულიონი კვერცხის ცილით – გამოიყენება პროტეოლიტური თვისების გასაგებად. ხმარობენ როგორც აერობებისათვის, ასევე ანაერობებისათვის.

ნიადაგები საკვებად, რომელთაც იყენებენ რედუციული თვისებების გამოსავლენად – ამზადებენ საღებავებს: 0,1 გ მეთილენის ლურჯი, ინდიგოკარმინი 1 გ, ნეიტრალროტი 0,4 გ; თითოეულს გახსნიან 20 მლ ცხელ დისტილირებულ წყალში, ფილტრავენ და იყენებენ ახალდამზადებულს; 100 მლ აგარს მიკრობის სახეობის შესაბამისად უმატებენ თითო მლ საღებავს ცალ-ცალკე. სტერილიზაციის მერე ჩათესავენ, ნიადაგი არ ინახება (**Андреев Ф.З., Белков И.Я., Клочко Р.Т.**, 1981).

ციმბირული წყლულის კულტივირებისათვის და სადიფერენციაციოდ გამოიყენება – გკი-ს ნიადაგი, დროჟევკინის ნიადაგი, ხორცპეპტონიანი აგარი პენიცილინით, საფუარის ბულიონი მეშერიაკოვის მიხედვით, საფუარის აგარი მეშერიაკოვის მიხედვით, ხორბლის აგარი, ბარდის აგარი.

ბრუცელოზის სადიფერენციაციოდ და კულტივირებისათვის ამზადებენ ღვიძლიან-გლუკოზიან-გლიცერინიან ბულლიონს, ღვიძლიან-გლუკოზიან-გლიცერინიან აგარს, ხელდსონის ღვიძლიან აგარს, შრატიან-გლუკოზიან აგარს, კარტოფილის აგარს, ელექტურ ნიადაგს გენციან იისფერით და მალაქიტის ლურჯით, კროლის ელექტურ ნიადაგს, მყარი ნიადაგები ფუქსინით და თიონინით, ფუქსინიან ნიადაგს, თიონინიან ნიადაგს.

ტუბერკულოზის სადიფერენციაციოდ და კულტივირებისათვის მზადდება პეტრანიანის ნიადაგი, ლევენშტეინ-იენსენის ნიადაგი, გილბერგის ნიადაგი, შკოლნიკოვის სისხლიანი ნიადაგი, მორდოვსკის „ახალი“ ნიადაგი, ტუბერკულო-სტატიკური ნიადაგი.

პარატუბერკულოზის სადიფერენციაციოდ და კულტივირებისათვის გამოიყენება დიუბო-სმიტის ნიადაგი, რომელიც შეიცავს ერთჩანაცვლებულ კალიუმს, ორჩანაცვლებულ ნატრიუმის ფორფატს, მაგნიუმის სულფატს, კალციუმის ქლორიდს, თუთიის სულფატს, სპილენძის სულ-

ფატს, ამიაკ-რკინის ციტრატს, L-ასპარაგინს, კაზეინის ჰიდროლიზატს, მიკობაქტერია ფლეის სპირტიან ექსტრაქტს.

ვიბრიოზის სადიფერენციაციოდ და კულტივირებისათვის ამზადებენ ნახევრად თხიერ ხორც-პეპტონიან ღვიძლიან აგარს, ხორც-პეპტონიან ღვიძლიან აგარს საფრანინით, რკინით და ნოვობიომიცინით, ნახევრად თხიერი ხორც-პეპტონიანი ღვიძლიანი მარილიანი აგარი, ნახევრად თხიერი ხორც-პეპტონიანი ღვიძლიანი აგარი ნაღველით, ნახევრად თხიერი ხორც-პეპტონიანი ღვიძლიანი აგარი ცისტინით, ნახევრად თხიერი ხორც-პეპტონიანი ღვიძლიანი აგარი გლიცინით.

ლეპტოსპიროზის სადიფერენციაციოდ და კულტივირებისათვის მზადდება ტერსკიხის მოდიფიცირებული ნიადაგი, ულენგუტის ნიადაგი, ლებავსკის ნიადაგი, ‍ყალ-შრატიანი ნიადაგი, ფერვორტი-ვოლფის ნიადაგი, ნახევრად თხიერი ფლეტჩერის ნიადაგი.

ლისტერიოზის სადიაგნოსტიკოდ და კულტივირებისათვის გამოიყენება ხორც-პეპტონიანი ღვიძლიანი ბულიონი გლიცერინით და გლუკოზით, ხორც-პეპტონიანი ღვიძლიანი აგარი გლიცერინით და გლუკოზით, ხორც-პეპტონიანი აგარი კიდურის ტულერიტით და პოლიმიქსინით, ხოტინგერის ბულიონი ინდიკატორული საღებავებით, მარილიანი ბულიონი.

სადიფერენციაციო ნიადაგები ენტერობაქტერიებისათვის – ენდოს ნიადაგი, ლევინის ნიადაგი, ბისმუტ-სულფატიანი აგარი, პლოსკირევის ნიადაგი, მიულერის ნიადაგი, კაუფმანის ნიადაგი, კილიანის ნიადაგი, ქლორ-მაგნიუმიანი ნიადაგი M, Φ-ბულიონი, ხორც-პეპტონიანი ბულიონი, კოზერის ნიადაგი, სიმონსის ციტრატიანი აგარი, ბულიონი შარდოვანათი, აგარი შარდოვანათი, ბულიონი გლუკოზით და გოგირდმჟავა რკინით, აგარი გლუკოზით და გოგირდმჟავა რკინით.

დიპლოკოკური ინფექციების აღმძვრელის კულტივირებისათვის – ბულიონი გლუკოზით, აგარი გლუკოზით, ნახევრად თხიერი ხორც-პეპტონიანი აგარი გლუკოზით.

სტრეპტოკოკების კულტივირებისათვის მზადდება – რძე მეთილე-ნის ლურჯით, ხორც-პეპტონიანი ბულიონი ნაღველით, ედვარდსის ნიადაგი.

სტაფილოკოკების სადიაგნოსტიკოდ და კულტივირებისათვის – სისხლიან-მარილიანი აგარი, რძიან-მარილიანი აგარი, მარილიანი ბულიონი (**Чекуров К.П., Матвиенко Б.А., Рягузов В.С., Дунаев Г.В., Ротов В.И., Любащенко С.Д.**, 1982).

3. საკუთარი გამოკვლევები

3.1. კვლევის მასალა და მეთოდები

თემით გათვალისწინებული სამუშაოები ჩატარებულია 2005–2008 წლებში საქართველოს სახელმწიფო სასოფლო-სამეურნეო უნივერსიტეტის სავეტერინარო ფაკულტეტის ჰიგიენა-ეკოლოგიის კათედრაზე და თბილისის ბიოტექსის ბაზაზე.

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა სხვადასხვა მიკროორგანიზმების როგორც ეტალონური შტამები, ასევე ცოცხალი ჯანმრთელი და იძულებით დაკლული ცხოველებიდან გამოყოფილი საველე შტამები.

ჩვენს მიერ გამოყოფილ იქნა ენტერობაქტერიები, სტაფილოკოკები, სტრეპტოკოკები, ანაერობები, ფსევდომონადები, პასტერელები, ლისტერიები და სხვ. მიკროორგანიზმთა კულტურები. შესადარებლად გამოვიყენეთ გამოყოფილი იზოლატების შესატყვისი ორ-ორი ეტალონური შტამი.

ცდების ჩასატარებლად გამოვიყენეთ 500 თეთრი თაგვი, წონით 18–28 გ, 50 – ზღვის გოჭი, 30 – ბოცვერი, 5 სული – ჯანმრთელი ძროხა, 5 სული – ჯანმრთელი ღორი, 3 – იძულებით დაკლული ძროხა, 6 – იძულებით დაკლული ღორი, მათი პათოლოგიური მასალა.

სუფთა კულტურების გამოყოფას ვაწარმოებდით მიკრობიოლოგიაში მიღებული მეთოდებით, გამოყოფილი კულტურით ვასნებოვნებდით თეთრ თაგვებს, მათ ვირულენტობას ვადარებდით ეტალონურ შტამებთან.

სამუშაოდ გამოიყენებოდა ხორც-პეპტონიანი ბულიონი (ხპბ), ხოტინგერის ბულიონი და აგარი, მარტენის ბულიონი, კიტ-ტაროცის ბულიონი, სისხლიან-გლუკოზიანი ღვიძლის ბულიონი, ცეისლერის, ფორტნერის და უილსონ-ბლერის საკვები არეები, მოხდილი რძე ჩამოსხმული სინჯარებში მაღალი სვეტით ზედაპირულად დაცული

ვაზელინით. რძის საკვები არე რკინის შემცველობით (რობინსონ-სტოვალის საკვები არე). ყველა ამ ნიადაგს ვადარებდით ჩვენს მიერ შეთავაზებულ საკვებ არესთან, რომელიც დამზადებულია მარცვლეულ-ი კულტურებისაგან – სიმინდის, სოიოს, ხორბლის ნახარშისაგან, ცალკე აერობებისთვის, ცალკე ანაერობებისთვის და მშრალი საკვები არე, რომელიც ვარგისია ორივე ჯგუფის მიკრობებისათვის.

გამოყოფილი იზოლატების კულტივირების შემდეგ კულტურას ვაცენტრიფუგირებდით და ნალექზედა სითხე შეგვყავდა თეთრი თაგვების მუცლის ღრუში და კანქვეშ ზურგის არეში, შეგვყავდა აგრეთვე თეთრ თაგვებში, იმავე ადგილებში, კულტურალური სითხე ცენტრიფუგირების გარეშე. პირველ შემთხვევაში ვიგებდით ტოქსინის რაობას (ეგზოტოქსინის), მეორე შემთხვევაში – ენდოტოქსინის, თუმცა ტოქსინის არსებობის შემთხვევაში იგივეს ვიყენებდით.

გამოყოფილი კულტურის მგრძნობელობა ანტიბიოტიკების მიმართ განისაზღვრა სერიული განზავების და სისხლიან აგარზე და ხორცპეპტონიან აგარზე დიფუზიის მეთოდით ანტიბიოტიკების დისკების გამოყენებით აერობულ და ანაერობულ პირობებში, იმისდა მიხედვით, რომელ ჯგუფს მიეკუთვნებოდა საცდელი მიკრობი (**Каган Ф.И.**, 1975).

შევისწავლეთ ჩვენს ნიადაგში მიკრობებზე გარემო ფაქტორების ზემოქმედება – ტემპერატურის, გამოშრობის, ოსმოსური წნევის და ანტისეპტიკური, სადეზინფექციო ხსნარების მოქმედება ენტერობაქტერიებზე, სტაფილოკოკებსა და კლოსტრიდიებზე.

ჩვენს მიერ შეთავაზებულ საკვებ ნიადაგებზე მოვახდინეთ გამოყოფილი და ეტალონური ანაერობული შტამების შეწყვილება ეშერიხიებთან, რა დროსაც დონორებად გვევლინებოდნენ კლოსტრიდიები, ხოლო რეციპიენტებად – ეშერიხიები (**Пехов А.П.**, 1978, 1979, 1986; **Кудлай Д.Г.**, 1961, 1970, 1977; **Езепчук Ю.В.**, 1977; **Жуков-Верешников Н.Н., Пехов А.П.**, 1963; **Бгаун В.**, 1968; **Ватанабе Ц.**, 1969; **Бил Дж., Наулз**

Дж., 1981; **Генералов О.В.**, 1971; **Жакоб Ф., Вольман Э.**, 1962; **Коляков Я.Е.**, 1986; **Полыковский М.Д.**, 1952; **Рахимов А.Х., Ахматов М.А.**, 1973; **Скавронская А.Г.**, 1976; **Хейс У.**, 1965; **Цион Р.А.**, 1948). რეკომბინანტი ეშერიხიებისაგან დამზადდა ვაქცინები, რომლებიც გამოვცადეთ თეთრ თაგვებზე, ზღვის გოჭებზე, ბოცვრებზე და მაკე ძროხებზე; რეკომბინანტი ვაქცინები იცავდნენ ცხოველებს როგორც კლოსტრიდიებისაგან, ასევე ეშერიხიებისაგან.

მაშასადამე, კონიუგაცია ჩვენდა ჩაურევლად მოქმედებს ბაქტერიებს შორის და ხდება მიმოცვლა ისეთი თვისებების, როგორიცაა ტოქსიგენობა, ანტიგენობა, ჰემოლიზური თვისებები, ბიოქიმიური აქტივობა, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა და სხვ. (**Evans J., Djnek G.**, 1988; **Falkow S.**, et al., 1971; **Göbel W.** et al., 1974; **Lederberg I.**, **Tatum E.L.**, 1946; **Luria S., Buuroms V.**, 1957; **Mejnell G.G.**, 1973; **Squires C.H.**, **Helfner D.L., Ewans R.J.** et al., 1984).

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესასწავლად გარდა სერიული განზავებისა და დისკების მეთოდისა (დიფუზიის მეთოდი აგარში) გამოვიყენეთ აგრეთვე **სკციბალსკის** და **ბრიზონის** მეთოდი (1952), რისთვისაც 12 მლ სისხლიან-გლკუკოზიანი აგარი ჩამოვასხით პეტრის ფინჯნებში, რომლებიც დალაგებული იყო დამრეცად; აგარის გამკვრივების შემდეგ ვალაგებდით ჰორიზონტალურად და დავუმატეთ იმავე რაოდენობის სისხლიან-გლუკოზიანი აგარი ანტიბიოტიკის განსაზღვრული კონცენტრაციით.

აგარის ორი შრის ამგვარი განაწილებით ხდება ანტიბიოტიკის დიფუზია და პროპორციული შეღწევა ქვედა შრეში; იქმნება ანტიბიოტიკის კონცენტრაციის გრადიენტი.

იმისათვის, რომ გამოგვეყო რეზისტენტული მუტანტები, გამოსაკვლევი მიკრობის უჯრედები $2–3·10^5$ კონცენტრაციით ჩავთესეთ ზედა შრის აგარში და მოვათავსეთ თერმოსტატში 37^0C-ზე 24 საათის გან-

მავლობაში. კულტივირების პირობები იყო ენტერობაქტერიებისათვის, სტაფილოკოკებისათვის, სტრეპტოკოკებისათვის და სხვ. აერობული, კლოსტრიდიებისათვის – ანაერობული.

კოლონიებს, რომლებიც გაიზარდა იმ ზონაში, სადაც ანტიბიოტიკის კონცენტრაცია იყო ყველაზე მაღალი, ამოვთესავდით ხორცპეპტონიან ღვიძლიან ბულიონში, ხორც-პეპტონიან ბულიონში და ჩვენს ნიადაგში (ბულიონში). 12-საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ვიმეორებდით აღნიშნულ პროცედურას; ანტიბიოტიკის კონცენტრაციას ვზრდიდით 2–3-ჯერ მაღალრეზისტენტული მუტანტის მიღების მიზნით.

ანტიბიოტიკორეზისტენტული ვარიანტების მიღება ხდებოდა აგრეთვე რეპლიკების მეთოდით, რასაც აღვწერთ Cl.perfringens-ის მაგალითზე. საწყისი კულტურები ჩაითესა სისხლიან-გლუკოზიან აგარში, ინკუბირება ხდებოდა 16 საათი, გაზრდილი კოლონიების ასლების გადაღებას ვახდენდით შემდეგნაირად: ხავერდის ნაჭრები ზომით 14×14 სმ, გადაკრული იყო მრგვალ ხის სადგამზე დიამეტრით 9 სმ და დამაგრებული იყო ლითონის მისაჭერით. საწყის კოლონიებს პეტრის ფინჯანზე ამობრუნებულად ვდებდით ხავერდის ნაჭერს და შემდეგ აღებულ ასლს ვადებდით გლუკოზიან-სისხლიან აგარს ანტიბიოტიკის გარკვეული კონცენტრაციით (**Lederberg D., Lederberg E.**, 1952).

გამოვიყენეთ აგრეთვე ერთჯერადი მოქმედება ანტიბიოტიკის მაღალი კონცენტრაციით საწყის კულტურებზე, შემდეგი სელექციით მუტანტი კოლონიების ანტიბიოტიკის კონცენტრაციის თანდათანობითი ზრდით.

ჩვენს მიერ შეთავაზებულ ნიადაგზე კონიუგაციას ანაერობებს, ეშერიხიებსა და სტაფილოკოკებს შორის ვაწარმოებდით **ვატანაბეს** (1961), **სასარმანის** (1965), **ჯ. მილერის** (1976) მეთოდებით; ბაქტერიების იდენტიფიკაციას, რომლებიც ახდენდნენ ჰემოლიზინის სინთეზს, ვახორციელებდით **გოსბელის, როიერის, პოკორას** (1974) მეთოდით;

ბაქტერიების იდენტიფიკაციას, რომლებიც ენტეროტოქსინის სინთეზს ახდენდნენ, **სმიტის** (1968) მეთოდით, აგრეთვე თეთრი თაგვების დასნებოვნებით მუცლის ღრუში და რეკომბინანტების კულტივირებით.

შეწყვილებას 0,15 M NaCl ხსნარში ვახდენდით შემეგნაირად: დონორ კულტურებს (კლოსტრიდიები) ვზრდიდით სისხლიან-გლუკოზიან აგარზე ანაერობულ პირობებში 24–36 საათი, გაზრდილ კოლონიებს ჩამოვრეცხავდით NaCl-ის ხსნარით და ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრ./წთ 20 წუთის განმავლობაში; ნალექს ერთხელ კიდევ ვრეცხავდით NaCl-ის ხსნარით და ნალექის სუსპენზირებას ვახდენდით 0,15 M NaCl-ის ხსნარში, ბაქტერიული უჯრედების კონცენტრირებას ვაწარმოებდით სიმღვრივის სტანდარტის საშუალებით 2 მლრდ. მ.სხ/მლ-ში.

ეშერიხიების კოლონიებს (რეციპიენტები) ვაგროვებდით ენდოს აგარიდან და გადაგვქონდა დაირიბებულ ხპა-ზე, 1-საათიანი ინკუბირების შემდეგ ბაქტერიებს ჩამოვრეცხავდით 0,15 M NaCl-ით და ვამუშავებდით, როგორც ზემოთ არის ნაჩვენები. უჯრედების კონცენტრაციას ვაყენებდით 2 მლრდ. მ.სხ./მლ.

ამგვარად მომზადებული სუსპენზიები აღნიშნული მიკრობებისა შევიტანეთ სინჯარაში, სადაც წინასწარ ჩასხმული იყო 0,15 M NaCl-ის ხსნარი. დონორისა და რეციპიენტის სუსპენზიის რაოდენობა იყო 0,5მლ თითოეულის. საკონტროლოდ სინჯარებში შევიტანეთ ცალ-ცალკე დონორი და რეციპიენტი. საცდელი და საკონტროლო სინჯარების ინკუბირებას ვახდენდით 6 საათით 37^0C-ზე. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ გადათესვას ვაწარმოებდით სელექციურ ნიადაგზე, რისთვისაც გამოვიყენეთ ენდოს აგარი და სისხლიან-გლუკოზიანი აგარი – პირველი ანტიბიოტიკის, ხოლო მეორე – ჰემოლიზის კონტროლისათვის.

3.2. მცენარეული კულტურებისაგან დამზადებული ნიადაგის ქიმიური შედგენილობა

მარცვლოვნები განსხვავებული ქიმიური შემადგენლობით ხასიათდებიან, კერძოდ, სიმინდი, ხორბალი და სოიო, რომლებიც გამოყენებული იქნა საკვები ნიადაგის დასამზადებლად აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის. ამ მარცვლოვნების ნახარში და ფხვნილი შეიცავს იმ აუცილებელ კომპონენტებს, რომელიც სჭირდება მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებას, თითოეული ცალკე აღებული კი ვერ აკმაყოფილებს მათ მოთხოვნას ცილებზე, ცხიმებზე, ნახშირწყლებზე, მინერალურ ნივთიერებებზე, ვიტამინებზე. განსაკუთრებით საგრძნობია შეუცვლადი ამინომჟავების დეფიციტი სიმინდსა და ხორბალში, ხოლო სოიო ამ ამინომჟავებს შეიცავს საკმარისი რაოდენობით, მაშასადამე, ხდება საკვები ნიადაგის დაბალანსება შეუცვლადი ამინომჟავებით, ასევე უაზოტო ექსტრაქტული ნივთიერებებითა და მიკროელემენტებით – კობალტით, იოდით, მოლიბდენით; ვიტამინებით – რიბოფლავინით, პანტოტენის მჟავათი, ქოლინით. ე.ი. ჯამში ერთის დეფიციტი ივსება მეორეში არსებულით და მიკროორგანიზმები ღებულობენ ყველა იმ საჭირო ნივთიერებას, რომელიც განაპირობებს საკმარისი ბიომასის დაგროვებას და იმ ძირითადი ბიოლოგიური თვისებების შენარჩუნებას (ანტიგენობა, ვირულენტობა, ტოქსიგენობა, ფერმენტული, კულტურალური თვისებები და სხვ.), რითაც ხასიათდება მიკრობის ესა თუ ის სახეობა.

საკვები ნიადაგი მიკროორგანიზმებისათვის, კერძოდ, სიმინდის, ხორბლის და სოიოს ფქვილი შეიცავს პროტეინს – 13,9%, ცხიმს – 8%, უჯრედანას – 3,5%, უაზოტო ექსტრაქტულ ნივთიერებებს – 54,2%, მაკროელემენტებს – 22,1 გ/კგ, მიკროელემენტებს – 67,11 მგ/კგ, B ჯგუფის ვიტამინებს – 641,6 მგ/კგ.

ცალკეულ მარცვლოვნებში ამინომჟავების შემცველობა შემდეგია (კგ/გ): სიმინდში – ლიზინი 1 კგ-ში 2,9 გ, მეთიონინი – 1,9 გ, ცისტინი – 1,1 გ, ტრიპტოფანი – 0,8 გ, არგინინი – 4,1 გ, ჰისტიდინი – 2,1 გ, ლეიცინი – 12,2 გ, იზოლეიცინი – 4,6 გ, ფენილ-ალანინი – 4,8 გ, ტრეონინი – 3,5 გ, ვალინი – 5,4 გ; ხორბალში – ლიზინი – 3,5 გ, მეთიონინი – 2,1 გ, ცისტინი – 2 გ, ტრიპტოფანი – 1,8 გ, არგინინი – 7 გ, ჰისტიდინი – 2,5 გ, ლეიცინი – 9,4 გ, იზოლეიცინი – 5,5 გ, ფენილ-ალანინი – 6,9 გ, ტრეონინი – 3,9 გ, ვალინი – 6 გ; სოიოში – ლიზინი – 21,5 გ, მეთიონინი – 4,6 გ, ცისტინი – 5,3 გ, ტრიპტოფანი – 4,3 გ, არგინინი – 25,6 გ, ჰისტიდინი – 7,6 გ, ლეიცინი – 26,2 გ, იზოლეიცინი – 17,6 გ, ფენილ-ალანინი – 17 გ, ტრეონინი – 12,7 გ, ვალინი – 12 გ.

როგორც ვხედავთ, სოიო შეუცვლადი ამინომჟავების მაჩვენებლით დიდად აღემატება სიმინდისა და ხორბლის მაჩვენებლებს; მაგ. ლეიცინის, არგინინის, ლიზინის, იზოლეიცინის, ფენილ-ალანინის, ტრეონინის და ვალინის შემცველობა ბევრად აღემატება სიმინდისა და ხორბლის მაჩვენებლებს, ე.ი. დეფიციტი აღნიშნული ამინომჟავებისა სიმინდსა და ხორბალში ივსება სოიოში არსებულით. თუ პროტეინის საერთო შემცველობას შევადარებთ ერთმანეთს, აქაც უპირატესობა სოიოს მარცვალს გააჩნია, მაგალითად, სიმინდში პროტეინის შემცველობა არის 10%, ხორბალში – 14% და სოიოში – 33,2%. სანაცვლოდ არააზოტოვანი ნაერთები სიმინდში და ხორბალში მეტია: სიმინდში – 66,1%, ხორბალში – 66,8%, სოიოში – 27,6%, ე.ი. საკვებ ნიადაგში ეს ნივთიერებებიც ერთმანეთს ავსებენ; ნაცარი სიმინდში 1,5%-ია, ხორბალში – 1,8%, სოიოში – 5,2%; სიმინდში კალციუმია 0,4%, ხორბალში – 0,6%, სოიოში – 5,1%; ფოსფორი სიმინდშია 3,1%, ხორბალში – 4,8%, სოიოში – 6,9%; ეს ელემენტებიც სოიოში მეტია, ვიდრე სიმინდსა და ხორბალში. შაქარი სიმინდში არის 19,7 გ ერთ კგ-ში, ხორბალში – 22,3 გ, სოიოში – 35,1 გ.

მიკროელემენტების შემცველობა სიმინდში არის რკინა – 36 მგ/კგ, მანგანუმი – 9,1 გ, სპილენძი 5 მგ/კგ, კობალტი – 18800 მკგ/კგ, თუთია – 21 მგ/კგ, იოდი – 45 მკგ/კგ, მოლიბდენი – 0,1 მგ/კგ; ხორბალში – რკინა არის 50 მგ/კგ, მანგანუმი – 31 გ, სპილენძი 5,1 მგ/კგ, თუთია – 43 მგ/კგ, იოდი – 28–185 მკგ/კგ; სოიოში რკინა არის 47 მგ/კგ, მანგანუმი – 15 გ, სპილენძი 14 მგ/კგ, კობალტი – 27 მკგ/კგ, თუთია – 42 მგ/კგ, მოლიბდენი – 0,55 მგ/კგ.

საკვებ ნიადაგში შემავალი მარცვლოვნების შემადგენლობაში B ჯგუფის ვიტამინები შემდეგნაირადაა განაწილებული: სიმინდში თიამინი – 2,8 მგ/კგ, რიბოფლავინი – 1,2 მგ/კგ, ნიკოტინის მჟავა – 15 მგ/კგ, პანტოტენის მჟავა – 5 მგ/კგ, ქოლინი – 400 მგ/კგ; ხორბალში, თიამინი – 3,4 მგ/კგ, რიბოფლავინი – 1,5 მგ/კგ, ნიკოტინის მჟავა – 50 მგ/კგ, პანტოტენის მჟავა – 12 მგ/კგ, ქოლინი – 900 მგ/კგ; სოიოში, თიამინი – 12 მგ/კგ, რიბოფლავინი – 1,5 მგ/კგ, ნიკოტინის მჟავა – 40 მგ/კგ, პანტოტენის მჟავა – 18 მგ/კგ, ქოლინი – 2500 მგ/კგ.

3.3. საცდელ მშრალ საკვებ ნიადაგზე აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირება

მშრალ საკვებ ნიადაგზე აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის, იმ ქიმიური შემადგენლობით, რომელიც ზემოთ იყო აღნიშნული, ემატება ნატრიუმის ქლორიდი (NaCl) – 0,7%, აგარი – 2% ან 3%, იმისდა მიხედვით, რა დანიშნულებითაა, მაგალითად, სისხლიან-გლუკოზიანი აგარი ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის – 3%, ჩვეულებრივი მყარი ნიადაგისათვის – 2%. მთლიანობაში ბიოლოგიური საწყისის ტიტრი საკვებ არეში არის 88%. მზა პროდუქციის გარეგანი სახეა მშრალი, ფხვნილის კონცენტრაციის, pH 7,2–7,6.

საკვებ ნიადაგზე უხვად იზრდებიან აერობები: ეშერიხიები, სალმონელები, პროთეუსი, ფსევდომონადები, ეშერიხიები, პასტერელები, ლისტერიები, ერიზიპელოტრიკსები, ჯილეხის აღმძვრელი, სტაფილოკოკები, სტრეპტოკოკები და სხვა აერობული მიკროორგანიზმები; 15% ცხვრის სისხლის და 2% გლუკოზის დამატებისას ოპტიმალურია კლოსტრიდიების – Cl. perfringens-ის, Cl. septicum-ის, Cl. oedematiens-ის, Cl. chauvoei-ის, Cl. sordelli-ის, Cl. tetani-ის, Cl. botulinum-ის კულტივირებისათვის.

საკვები არე საბოლოო სახეს ღებულობს სიმინდის, ხორბლის, სოიოს ფქვილის, აგარის და ნატრიუმის ქლორიდის შერევით ისე, რომ თითოეული ინგრედიენტი თანაბრად განაწილდეს ნარევში. ფასოვდება ქილებში ან ქაღალდის პაკეტებში 100 და 200 გრამის ოდენობით, pH 7,2–7,6.

გამოყენებისას 5 გ ნარევი უნდა გაიხსნას 100 მლ გამოხდილ წყალში და დუღილის დაწყებიდან იხარშოს 5–7 წუთი, დაყოვნდეს, სანამ ტემპერატურა არ დაიწევს 55–70^0-მდე, ჩამოისხას სინჯარებში, დაირიბებული აგარის ან პეტრის ფინჯნებში მყარი ნიადაგის მისაღებად.

საკვებ არეში შემავალი კომპონენტები თავისი ქიმიური შედგენილობით სრულად აკმაყოფილებენ მიკროორგანიზმების მოთხოვნებს: სრულფასოვანი ცილა (პროტეინი) – არის პლასტიკური საშენი მასალა გახარჯული უჯრედოვანი ელემენტების შესაცვლელად, ამავე დროს ენერგიის წყარო, რომელიც ზრდა-განვითარების სტიმულს აძლევს მიკრობულ უჯრედს; ნახშირწყლები – აერობული უჯრედის მიერ მოხმარებული შაქრების რაოდენობა, რომელიც არის საკვებ ნიადაგში და განაპირობებს ზრდას და გამრავლებას; ცხიმები – ენერგიის წყარო, რომელიც სჭირდება მიკროორგანიზმს ზრდის პროცესში; უაზოტო ექსტრაქტული ნივთიერებები, მაკროელემენტები, მიკროელემენტები, ვიტამინები – ეს ის ნივთიერებებია, რომლებიც აუცილებელია მიკრობული უჯრედის ნორმალური განვითარებისათვის. ისინი შედიან მიკრობის მიერ პროდუცირებული ფერმენტების შემადგენლობაში და შლიან ცილებს, ნახშირწყლებს, ცხიმებს.

კულტივირების პროცესში დროის ხანგრძლივობა, ახალ საკვებ ნიადაგზე, დამოკიდებულია მიკრობის სახეობაზე და არის შესაბამისობაში ამა თუ იმ სახეობის ზრდის მაჩვენებელთან გამოყენებულ საკვებ არეებზე. მიკრობული უჯრედების მიმართ საკვებ არეს ლეტალური მოქმედება არ გააჩნია, ხოლო დროის მონაკვეთში გაცილებით ეფექტურია ბიომასის დაგროვების თვალსაზრისით, ვიდრე არსებული საკვები ნიადაგები.

საკვებ ნიადაგს აქვს ღია-რუხი ფერი, სუნი კი მარცვლეულის ფქვილისათვის დამახასიათებელი სპეციფიკური და სასიამოვნოა, ტენიანობა არის 12%, pH 7,2–7,6; ინახება მშრალ გარემოში, მზის სხივებისაგან დაცულ ადგილას, +8^0-დან +30^0-მდე, 1,5 წელი.

ნიადაგი აბსოლუტურად უვნებელია ადამიანისათვის, შინაური ცხოველებისა და ფრინველებისათვის, ვინაიდან წარმოადგენს ძვირფას საკვებ პროდუქტს; მცირედ ხსნადია, აქროლადობა პრაქტიკულად არ

ახასიათებს, ხარშვისას არ კარგავს ბაქტერიების ზრდისათვის ოპტიმალურ თვისებებს.

აღნიშნული წესით დამზადებულ საკვებ ნიადაგზე შევისწავლეთ ზემოთ ჩამოთვლილი მიკროორგანიზმების ზრდა, რომელთაგან აღვწერთ ზოგიერთს: ეშერიხიას, სალმონელლას, სტაფილოკოკს, Cl. perfringens-ს.

პეტრის ფინჯნებში, მყარ საკვებ ნიადაგზე, ეშერიხია იზრდება დამახასიათებელი კოლონიების სახით – ოდნავ ამობურცული, ნახევრად გამჭვირვალე, მორუხო ფერის, ზომით 2–3 მმ, სწორი კიდეებით, კრიალა ზედაპირით; სალმონელები – გლუვი, მრგვალი, კრიალა, ამობურცული ფორმის კოლონიები; სტაფილოკოკები – მრგვალი, სწორი კიდეებით ამობურცული, ოქროსფერი (შტამი №209) კოლონიები; Cl. perfringens – საკმაოდ დიდი ზომის კოლონიები, გლუვი ზედაპირით, სწორი კიდეებით, ოდნავ ამობურცული ცენტრში, ექსიკატორიდან ამოღების შემდეგ სისხლიან-გლუკოზიან აგარზე ღებულობენ მწვანე ფერს, ჰემოლიზი გაუმჭვირვალეა. ყველა მათგანის კოლონია შემოწმებულია ტინკტორიალურ თვისებებზე და დაემთხვა სახეობის მაჩვენებელს. ცალკეული კოლონიები ამოვთესეთ შესაბამის საკვებ ნიადაგებზე, იმის გასაგებად, თუ რამდენად შეინარჩუნეს მიკრობებმა ახალ საკვებ ნიადაგზე პათოგენური თვისებები – ეშერიხიები, სალმონელები, სტაფილოკოკები ხორც-პეპტონიან ბულიონში, ხოლო Cl. perfringens-ი კიტ-ტაროცის ბულიონში (იხ. ცხრილი 1).

ამგვარად, შეთავაზებულია ახალი მშრალი საკვები არე, რომელზეც სხვადასხვა სახეობის მიკროორგანიზმები სრულად ინარჩუნებენ დამახასიათებელ პათოგენობას – 6 საცდელი თაგვიდან E. coli-ს კულტურით მოკვდა 4, სალმონელათი – 5, სტაფილოკოკით – 5, Cl. perfringens-ით – 6, საკონტროლო, რომელსაც შევუყვანეთ ფიზიოლოგიური ხსნარი, უვნებელი დარჩა.

ცხრილი 1

ახალ საკვებ ნიადაგზე გაზრდილი კულტურების შემოწმება პათოგენობაზე (ცდები თეთრ თაგვებზე)

№	მიკრობთა კულტურები	საკვები ნიადაგები	თეთრი თაგვების რაოდ.	შეყვანის ადგილი	მოკვდა	გადარჩა
1.	E. coli	ხპბ სხსნ	6 6	მუცლის ღრუში	4 4	2 2
2.	Salmonella cholera suis	– „ – – „ –	6 6		5 6	1 –
3.	St. aureu №205	– „ – – „ –	6 6		5 5	1 1
4.	Cl. perfringens	კიტ-ტაროცი სხსნ ანაერობებისათ.	6 6		6 6	– –
5.	საკონტროლო	ფიზ. ხსნარი NaCl	4		–	4

შენიშვნა: სხსნ – სიმინდის, ხორბლის, სოიოს ნახარში.

4. ახალი საკვები არე აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის

ახალი საკვები არე აერობული მიკროორგანიზმებისათვის დამზადდა მარცვლეული კულტურების ნახარშისაგან, ცხოველური წარმოშობის ინგრედიენტების დამატების გარეშე, რაც აღნიშნულ საკვებ არეს, ეკონომიკური თვალსაზრისით, ხელმისაწვდომს ხდის, თანაც ამ ნიადაგზე გაზრდილი მიკროორგანიზმები ინარჩუნებენ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებებს და, ბიომასის დაგროვების თვალსაზრისით, არ ჩამოუვარდება არსებულს.

ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირება საკმაოდ რთულია, ვინაიდან მომთხოვნი არიან საკვები ნიადაგებისადმი. საკვები არე მდიდარი უნდა იყოს სრულფასოვანი ცილებითა და ნახშირწყლებით, წინააღმდეგ შემთხვევაში ზრდა სრულყოფილი არ იქნება, ან არ წარიმართება. თუ თხიერ ნიადაგს ავიღებთ, აუცილებელია ღვიძლის ნახარშზე ღვიძლის ნაჭრების შეტანა, ან მყარი ნიადაგის მომზადებისას ხპა-ში სისხლისა და გლუკოზის დამატება. არის სხვა ვარიანტებიც, მაგრამ ყველა საჭიროებს ცილებსა და ნახშირწყლებს. გასაგებია, რომ ოპტიმალური ნიადაგის დამზადება ძვირად ღირებულ კომპონენტებთანაა დაკავშირებული, ამდენად, მარცვლოვანი კულტურებიდან დამზადებული საკვები არე დაზოგავს ძვირად ღირებულ ცხოველური წარმოშობის პროდუქტს.

4.1. ახალი საკვები არე აერობული და ფაკულტატური ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის

ძვირად ღირებული საკვები ნიადაგის შეცვლა შედარებით იაფით, რომელიც უზრუნველყოფს იმავე რაოდენობის ბიომასის დაგროვებას, არ ნიშნავს, რომ შენარჩუნებულია ძირითადი ბიოლოგიური თვისებები – პათოგენობა და ანტიგენობა, აუცილებელი პირობა კი მათი, საწყის დონეზე მაინც, არსებობის უზრუნველყოფაა. აერობული მიკროორგანიზმების კულტივირება ისეთ იაფ სუბსტრატზე, როგორიც სოიოს, ხორბლის და სიმინდის ნახარშია, თანაც ძალზე მომთხოვნი მიკროფლორისათვის – სტრეპტოკოკების, ბრუცელების, პასტერელების, ძალზე საყურადღებოა, შესწავლილია სხვა სახეობის მიკროორგანიზმებიც – სალმონელები, ეშერიხიები, სტაფილოკოკები, ე.ი. მთელი სპექტრი იმ მიკროორგანიზმებისა, რომლებიც ძალზე ხშირად არიან მიზეზი შესაბამისი ინფექციური დაავადებების აღმოცენებისა, არა მარტო ცხოველებში, არამედ ადამიანებშიც. ყველა ჩამოთვლილი მიკრობთა სახეობები შევისწავლეთ მათი ბიოლოგიური თვისებების მიხედვით, არსებულ, ფართოდ გამოყენებულ საკვებ ნიადაგებზე და შედარებულია შეთავაზებულ საკვებ არეებთან – თხიერსა და მყართან. სამუშაოს წინ უსწრებდა საკვებ არედ გამოყენებული სუბსტრატის – სოიოს, სიმინდისა და ხორბლის ნახარშის ბიოქიმიური ანალიზი.

ვინაიდან მიკრობთა კულტივირებისათვის პირველხარისხოვანი მნიშვნელობა ცილების შემცველობას აქვს – განისაზღვრა საერთო აზოტი, ამინური ჯგუფი, ტრიპტოფანი.

საერთო აზოტის შემცველობა თუ ხორცის ბულიონში შეადგენს 250–300 მგ%, მცენარეული სუბსტრატის ნახარშში – 230–300 მგ%-ია, ე.ი. რაოდენობა იგივეა და სრულად აკმაყოფილებს მიკრობთა მოთხოვნას საერთო აზოტზე.

ამინური აზოტის შემთხვევაში ხორციან ბულიონში ამინომჟავების რაოდენობა, საერთოსთან შედარებით, 20–30%-ია, მარცვლეულის ნახარშში იგივე მდგომარეობაა, იმ განსხვავებით, რომ გათვალისწინებულია თითოეული კომპონენტის ამინომჟავური შედგენილობა, სადაც მთავარია ერთში დეფიციტის შევსება მეორეში არსებულით, ასე მაგალითად, საერთო ცილა, ამინური აზოტი და ტრიპტოფანი სიმინდსა და ხორბალში შედარებით მცირე რაოდენობითაა და მკვეთრად ჩამოუვარდება სოიოში არსებულს, ნახარშში კი, ისინი ერთმანეთს ავსებენ, ამგვარად ხდება დაბალანსება ყველა შეუცვლადი ამინომჟავებით, რაც უზრუნველყოფს აღნიშნული მიკრობული სახეობების ძალზე კარგ ზრდას, მიუხედავად იმისა, მასში არ შედის ცხოველური წარმოშობის დანამატი, ემატება მხოლოდ სუფრის მარილის (NaCl) 0,5–0,7%-ის რაოდენობა. ამგვარად, ამინური აზოტი შეადგენს 120–140 მგ%, ხოლო ტრიპტოფანი – 3,8 მგ%-ს, რაც სუბსტრატში ცილების მაღალ შემცველობაზე მეტყველებს და იმ ნივთიერებების საკმარის დონეზე პროდუცირებას, რომლებიც განაპირობებენ სტაფილოკოკებში, სტრეპტოკოკებში, ეშერიხიებში – ტოქსიგენობას, სალმონელებში – ვირულენტობას ენდოტოქსინის დონეზე, ეშერიხიებში – კოლიცინების სინთეზს და სხვ. ე.ი. ყველა ამ მნიშვნელოვანი თვისების რეალიზებას მიკრობულ უჯრედში განაპირობებს სწორედ ცილების ოპტიმალური რაოდენობა, შეუცვლადი ამინომჟავებით უზრუნველყოფა.

სწორედ შეუცვლადი ამინომჟავების არსებობითაა ნაკარნახევი ტრიპტოფანის განსაზღვრა, რომელიც ცილების სრულფასოვნებაზე მიუთითებს და აუცილებელია მიკრობების ნორმალური ზრდისათვის. ეს მნიშვნელოვანი ამინომჟავა ყველაზე მეტი რაოდენობით აღმოჩნდა სოიოში – 4,6 მგ%, ასევე მეტი აღმოჩნდა საერთო აზოტი (250–330 მგ%) და ამინური აზოტი (140–160 მგ%).

ბიომასა სოიოს, ხორბლის, სიმინდის ნახარშისაგან დამზადებულ საკვებ ნიადაგში არ ჩამოუვარდება ხპა-ში გაზრდილ მიკრობთა რიცხვს და შეადგენს 10 მლრდ/მლ-ში 100 გ სუბსტრატიდან. მიკრობთა კონცენტრაციას ვიგებდით სიმღვრივის სტანდარტის საშუალებით (მონაცემები იხ. ცხრილ 2-ში).

როგორც ცხრილი 2-დან ჩანს, ყველაზე კარგი ზრდა დაფიქსირდა ხოტინგერის ბულიონში, მას ოდნავ ჩამორჩებოდა საცდელი საკვები არე და შედარებით დაბალი იყო ბიომასის დაგროვება ხპა-ში.

ინფექციურ პათოლოგიებში, როდესაც საქმე გვაქვს ახლად მიღებულ იზოლატებთან, რომელთაც უნდა შეუნარჩუნდეთ ძირითადი ბიოლოგიური თვისებები – პათოგენობა და ანტიგენობა, უპირველესი მნიშვნელობა ენიჭება საკვები ნიადაგის სრულფასოვნებას, ცილოვანი კომპონენტების ოპტიმალურ რაოდენობას, რაც, ჩვენი აზრით, მიღწეულია და დადასტურებულია ცდებით ეშერიხიების, სალმონელების, სტაფილოკოკების, სტრეპტოკოკების, პსევდომონადების, Bac. Antracis, ანაერობების რეფერენტული შტამების კულტივირებისას; ყველა გამოყენებული შტამი ინარჩუნებდა თავის საწყის მდგომარეობას და ხორცის ნიადაგზე გაზრდილ კულტურებთან შედარებისას სხვაობა არ შეინიშნებოდა – პათოგენური თვისებების მქონე კულტურა რჩებოდა იმავე თვისებების მატარებლად, იგივე ეხება ბიოქიმიურ თვისებებსაც, ის შაქრები, რომლებიც ჩვეულებრივ ნიადაგზე განიცდიდა დაშლას მიკრობების მიერ პროდუცირებული ფერმენტებით, იშლებოდა საცდელ ნიადაგზე გაზრდილი კულტურითაც.

როგორც ცხრილი 3-დან ჩანს, ახალ საკვებ ნიადაგზე ბაქტერიები ინარჩუნებენ სახეობებისთვის დამახასიათებელ ფერმენტაციულ და პროტეოლიტურ თვისებებს.

ცხრილი 2

მიკრობთა ზრდა საცდელ საკვებ არეზე და ხპბ-ზე

№	მიკრობთა დასახელება	საცდელი საკვები არე	კონტროლი		მიკრობთა კონცენტრაცია		
			ხპბ	ხოტინგერის ბულიონი	საკონტ. არის	ხპბ	ხოტინგერის ბულიონი
1.	St. epidermidis	უხვი ზრდა	უხვი ზრდა	უხვი ზრდა	10 მლრდ/მლ	8 მლრდ/მლ	10 მლრდ/მლ
2.	St. piogenes	უხვი ზრდა	ზომიერი ზრდა	უხვი ზრდა	10 მლრდ/მლ	7 მლრდ/მლ	10 მლრდ/მლ
3.	E. coli	უხვი ზრდა	უხვი ზრდა	უხვი ზრდა	10 მლრდ/მლ	9 მლრდ/მლ	10 მლრდ/მლ
4.	Shigella	უხვი ზრდა	ზომიერი ზრდა	უხვი ზრდა	10 მლრდ/მლ	8 მლრდ/მლ	10 მლრდ/მლ
5.	Klebsiella	უხვი ზრდა	ზომიერი ზრდა	უხვი ზრდა	10 მლრდ/მლ	7 მლრდ/მლ	10 მლრდ/მლ
6.	Pseudomonas	უხვი ზრდა	ზომიერი ზრდა	უხვი ზრდა	9 მლრდ/მლ	7 მლრდ/მლ	10 მლრდ/მლ
7.	„სტი“	ზომიერი ზრდა	ზომიერი ზრდა	ზომიერი ზრდა	7 მლრდ/მლ	6 მლრდ/მლ	8 მლრდ/მლ
8.	„იხტიმანი“	ზომიერი ზრდა	ზომიერი ზრდა	ზომიერი ზრდა	8 მლრდ/მლ	6 მლრდ/მლ	8 მლრდ/მლ

ცხრილი 3

ახალ საკვებ ნიადაგზე მიკრობების ფერმენტაციული და პროტეოლიზური უნარი

№	მიკრობთა კულტურები	მალტოზა	ინულინი	ინოზიტი	არაბინოზა	გლუკოზა	გლიცერინი	რაფინოზა	საქაროზა	მანიტი	დულციტი	მანოზა	ქსილოზა	სორბიტი	ლაქტოზა	გალაქტოზა	ადონიტი	რამნოზა	რძე	ჟელატინა	ინდოლი	გოგირდწყალბადი	შენიშვნა
1	St.epidermidis	+	–	–	–	+	+	–	+	+	–	–	+	–	+	–	–	–	+	+	–	+	რძეს ადე- დებს 20-30 საათში
2	St.piogenes	+	–	–	–	+	–	–	+	±	–	–	–	–	+	–	–	–	+	+	–	–	რძეს ადე- დებს 16-20 საათში
3	E.coli	+	–	–	+	+	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+	–	+	+	–	+	–	რძეს ადე- დებს 20-30 საათში
4	Shigella	–	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	±	–	–	–	–	–	±	–	
5	Klebsiella	–	–	–	–	+	–	–	–	–	±	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	
6	Pseudomonas	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	±	
7	„სტი“	+	–	–	–	+	±	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+		±	
8	„იხტიმანი“	+	–	–	–	+	±	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+		±	

განსაკუთრებით აღნიშვნას საჭიროებს E. coli-ს M17 შტამი, რომელიც გამოიყენება პრობიოტიკების – კოლიბაქტერინისა და რომაკოლის დასამზადებლად. აღნიშნული შტამის მოქმედი საწყისი ძლიერი ანტაგონისტური თვისების მქონე ნივთიერება – კოლიცინია, რომელიც თრგუნავს ზრდას არა მარტო სახეობის შიგნით მყოფი ინდივიდებისა, არამედ სხვა გვარის მიკროფლორასაც – სტაფილოკოკების, კლოსტრიდიების და ა.შ.

ამდენად, მეტად საინტერესო იყო, თუ რამდენად შეინარჩუნებდა აღნიშნული შტამი ამ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებას, წინააღმდეგ შემთხვევაში, მისი გამოყენება პროფილაქტიკური და სამკურნალო დანიშნულების პრეპარატების დასამზადებლად შეუძლებელი გახდებოდა. შემოთავაზებულ ნიადაგზე აღნიშნული შტამი (E. coli M–17) ხასიათდებოდა ბიომასის საკმარისი რაოდენობის დაგროვებით და კოლიცინოგენური თვისებების სრულად შენარჩუნებით იმ დროში, რომელიც პრეპარატის დამზადების რეჟიმითაა გათვალისწინებული (იხ. ცხრილი 4).

ცხრილი 4

E. coli M–17 შტამის ანტაგონიზმის უნარი სტაფილოკოკების მიმართ

№	სტაფილოკოკების კულტურები	დაცილება E. coli-ს M–17 შტამის ზრდის ზონიდან	
		საცდელი ნიადაგი	ხორც-პეპტონიანი აგარი
1.	St. aureus №205	24	22
2.	St. epidermidis №1	27	26
3.	–"– №2	27	27
4.	–"– №3	29	29
5.	–"– №4	25	25
6.	–"– №6	20	21
7.	–"– №7	22	23
8.	–"– №8	22	23
9.	–"– №9	30	28
10.	–"– №10	22	22
11.	–"– №11	30	30
12	–"– №12	27	27

ამგვარად, დაცილება E. coli M–17 შტამის ზრდის ზონიდან თითქმის იდენტურია ორივე ნიადაგზე – საცდელზე და საკონტროლოზე; დაცილება სტაფილოკოკების ზრდისა შეადგენს 22 მმ-დან 30 მმ-მდე, რაც მაჩვენებელია E.coli M–17 შტამის ძლიერი ანტაგონისტური მოქმედებისა.

ცდისათვის M–17 შტამის 24-საათიანი ნაზარდი ბულიონიდან შეგვქონდა პეტრის ფინჯანში ჩამოსხმული ნიადაგის გაზონზე (მყარი ნიადაგის დასამზადებლად მარცვლეულის ექსტრაქტს დაემატა აგარ-აგარი 2% რაოდენობით), შტრიხით დიამეტრალურ ზოლად; ინკუბირებას ვახდენდით 37^0C-ზე 24 საათის განმავლობაში, უხვი ნაზარდი სწორ ზოლად გაჰყვებოდა აგარის ზედაპირს; ამ ზოლის პერპენდიკულარულად, რადიალურ ზოლებად 2 მმ-ის დაცილებით მოვთესეთ სტაფილოკოკების 24-საათიანი ნაზარდი ბულიონიდან (სტაფილოკოკების იზოლატებს ვღებულობდით ჰაერიდან სედიმენტაციის მეთოდით, გარდა რეფერენტული შტამისა St. aureus №209), ორივე მხარეს 6–6 შტამი. ნათესების კულტივირება ხდებოდა თერმოსტატში 37^0C-ზე 24 საათის განმავლობაში; შედეგად E.coli M–17 შტამის ზრდის ზონიდან 22–30 მმ-ის დაცილებით აღინიშნებოდა სტერილური ზონა – სტაფილოკოკების თითოეული კულტურის კოლონიები განსხვავებული მანძილით იყო დაცილებული ცენტრალური ზოლიდან – M–17 შტამის ზრდის ზონიდან.

ამგვარად, საცდელ ნიადაგზე მიკრობები ინარჩუნებდნენ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებებს, ხოლო კოლიცინის პროდუცირების უნარით არ ჩამოუვარდებიან ხორც-პეპტონიან აგარზე გაზრდილ კულტურებს. სტერილური ზონა კოლონიების გარშემო მერყეობს 22 მმ-დან 38 მმ-ს შორის, რაც პროდუქტის დასამზადებლად აღნიშნული ნიადაგის ვარგისიანობაზე მეტყველებს.

4.2. ახალი საკვები არე ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის

ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირება საკმაოდ რთულია, ვინაიდან მომთხოვნი არიან საკვები ნიადაგებისადმი. საკვები არე მდიდარი უნდა იყოს სრულფასოვანი ცილებითა და ნახშირწყლებით, წინააღმდეგ შემთხვევაში ზრდა სრულყოფილი არ იქნება, ან არ წარიმართება. თუ თხიერ ნიადაგს ავიღებთ, აუცილებელია ღვიძლის ნახარშზე ღვიძლის ნაჭრების შეტანა, ან მყარი ნიადაგის მომზადებისას ხპა-ში სისხლის და გლუკოზის დამატება. არის სხვა ვარიანტებიც, მაგრამ ყველა საჭიროებს სრულფასოვან ცილებსა და ნახშირწყლებს. გასაგებია, რომ ოპტიმალური ნიადაგის დამზადება ძვირად ღირებულ კომპონენტებთანაა დაკავშირებული.

ამასთან დაკავშირებით გამოიცადა რამდენიმე ვარიანტი საკვები ნიადაგისა, რომლებიც მხოლოდ მცენარეულ სუბსტრატს შეიცავდა, მათგან შევჩერდით სოიოს, ხორბლისა და სიმინდის ექსტრაქტზე, რომელშიც გათვალისწინებული იყო ამინომჟავური შემცველობა – ერთის დეფიციტი კომპენსირდებოდა მეორის სრულფასოვანი შემადგენლობით. ასე, მაგალითად, ხორბალსა და სიმინდში შეუცვლადი ამინომჟავები – ტრიპტოფანი, ლიზინი, ლეიცინი და სხვ. დეფიციტი შეივსებოდა სოიოში არსებულით, სადაც ეს ამინომჟავები საკმარისი რაოდენობითაა, ხოლო რაც შეეხება ნახშირწყლებს, ისინი ხორბალსა და სიმინდში სრულად არიან წარმოდგენილი და აკმაყოფილებენ ანაერობების მოთხონებს ამ ნივთიერებებზე.

მაშასადამე, მზადდებოდა სოიოს, ხორბლისა და სიმინდის ექსტრაქტი, ემატებოდა მას სუფრის მარილი (NaCl) 0,5–0,7% რაოდენობით, pH 7,4–7,6 ფარგლებში. ვასხამდით სინჯარებში მაღალი სვეტით, ფსკერზე ვათავსებდით სოიოს კაკლებს 3–4 ცალის რაოდენობით,

ხოლო ზედაპირზე, ატმოსფეროს ჰაერისაგან ვიცავდით ვაზელინის თხელი ფენით. კულტურის ჩათესვის წინ ვახდენდით დუღილით რეგენერაციას 15 წუთით.

მყარი ნიადაგის დასამზადებლად სამივე მარცვლეულის ექსტრაქტს ვუმატებდით 3% აგარ-აგარს, 15% – სისხლს, 2% – გლუკოზას და NaCl – 0,5–0,7%, pH 7,4–7,6. ამგვარად დამზადებულ მყარ ნიადაგს ჩამოვასხამდით პეტრის ფინჯნებში 18–20 მლ-ის რაოდენობით.

ცდაში გამოვიყენეთ ანაერობების შემდეგი კულტურები: Cl. perfringens A28, B216, D213, C219; Cl. Septicum A59, A113; Cl. oedematiens A79 და Cl. chauvoei B1, B16. აღნიშნულ კულტურებს ვთესავდით ახალ თხიერ ნიადაგზე. შესადარებლად იგივე კულტურებს ვთესავდით კიტ-ტაროცის ბულიონში. კულტივირებას ვახდენდით 24–48 საათის განმავლობაში 37^0C-ზე. შედეგები იხ. ცხრილ 5-ში.

როგორც ცხრილიდან ჩანს, ანაერობების ყველა კულტურა უხვ ზრდას იძლეოდა და აირსაც ენერგიულად გამოყოფდა, გარდა Cl. oedematiens-ის A79 შტამისა, რომელიც უხვად იზრდება, მაგრამ აირს ზომიერად გამოყოფს და Cl. chauvoei B1, რომელიც ზომიერად იზრდება და აირსაც ზომიერად გამოყოფს, განსხვავება არც Cl. chauvoei B16 ზრდაშია, რომელიც საცდელ ნიადაგზე უხვად იზრდება, მაგრამ აირს ზომიერად გამოყოფს, ასევე საკონტროლო ნიადაგზე იგივე კულტურები მყარ საკვებ ნიადაგზე შემდეგ სურათს იძლევა (იხ. ცხრილი 6).

როგორც ცხრილიდან ჩანს, განსხვავება ზრდაში, კოლონიების ფორმაში და ჰემოლიზურ აქტივობაში საცდელ და საკონტროლო ნიადაგებზე არ შეიმჩნევა.

გასაგებია, რომ ყველა ეს თვისება – ბიომასის საკმარისი რაოდენობის დაგროვება, კოლონიების ფორმა, ჰემოლიზი და სხვ. საცდელ ნიადაგზე ისეთივეა, როგორც საკონტროლოზე, მაგრამ ეს არ არის საკმარისი, რომ ნიადაგის სრულფასოვნებაზე დასკვნა გავაკეთოთ,

ცხრილი 5

კლოსტრიდიების ზრდა თხიერ საცდელ და საკონტროლო ნიადაგებზე

№	კლოსტრიდიები	საცდელი ნიადაგი (მარცვლეული კულტურების ექსტრაქტი)	საკონტროლო ნიადაგი (კიტ-ტაროცის ბულიონი)
1.	Cl. perfringens A28	უხვი ზრდა, აირის ენერგიული გამოყოფა	უხვი ზრდა, აირის ენერგიული გამოყოფა
2.	– " – B216	– " –	– " –
3.	– " – D213	– " –	– " –
4.	– " – C219	– " –	– " –
5.	Cl. Septicum A59	უხვი ზრდა, აირის ენერგიული გამოყოფა	უხვი ზრდა, აირის ენერგიული გამოყოფა
6.	– " – A113	– " –	– " –
7.	Cl. oedematiens A79	უხვი ზრდა, აირის ზომიერი გამოყოფა	უხვი ზრდა, აირის ზომიერი გამოყოფა
8.	Cl. chauvoei B1	უხვი ზრდა, აირის ზომიერი გამოყოფა	უხვი ზრდა, აირის ზომიერი გამოყოფა
9.	– " – B16	– " –	უხვი ზრდა, აირის ზომიერი გამოყოფა

ცხრილი 6

კლოსტრიდიების ზრდა მყარ საცდელ და საკონტროლო ნიადაგებზე

№	კლოსტრიდიები	მარცვლეული კულტურების ექსტრაქტზე დამზადებული მყარი ნიადაგი (საცდელი)	სისხლიან-გლუკოზიანი აგარი (საკონტროლო)
1. 2. 3. 4.	Cl. perfringens A28 – " – B216 – " – D213 – " – C219	მრგვალი, სწორი კიდეების მქონე, მომწვანო ფერის კოლონიები, მათ გარშემო ჰემოლიზი	მრგვალი, სწორი კიდეების მქონე, მომწვანო ფერის კოლონიები, მათ გარშემო ჰემოლიზი
5. 6.	Cl. Septicum A59 – " – A113	კოლონიების ზრდა ფოჩისებურია, სუსტი ჰემოლიზით	კოლონიების ზრდა ფოჩისებურია, სუსტი ჰემოლიზით
7.	Cl. oedematiens A79	კოლონიების ზედაპირი დანაოჭებულია, დაკბილული კიდეებით, ჰემოლიზი	კოლონიების ზედაპირი დანაოჭებულია, დაკბილული ზედაპირით
8. 9.	Cl. chauvoei B1 – " – B16	კოლონიები მრგვალი ფორმისაა, ან სადაფის ღილების, ან ვაზის ფოთლის მსგავსი, ჰემოლიზი	კოლონიები მრგვალი ფორმისაა, ან სადაფის ღილების, ან ვაზის ფოთლის მსგავსი, ჰემოლიზი

სურათი 1. საცდელ თხიერ ნიადაგზე გაზრდილი Cl. perfringens-ის კულტურა; შეღებილია გრამის წესით.

სურათი 2. საცდელ მყარ საკვებ ნიადაგზე გაზრდილი Cl. perfringens-ის კულტურა; შეღებილია გრამის წესით.

საჭიროა აღნიშნულ ნიადაგზე კულტურამ საკმარისი რაოდენობით დააგროვოს ტოქსინი. ამისათვის ჩავატარეთ ბიოცდა – ცდაში ავიყვანეთ თეთრი თაგვები წონით 16–18 გ და დავასნებოვნეთ კლოსტრიდიების ვირულენტური კულტურებით, თითო კულტურაზე 6 სულის რაოდენობით. კულტურა შეგვყავდა კანქვეშ, ზურგის არეში, დოზით 0,5 მლ (1 მლ შეიცავდა 100 მლნ. მიკრობულ სხეულს) (იხ. ცხრილი 7).

ცხრილი 7

თეთრი თაგვების დასნებოვნება საცდელ და საკონტროლო ნიადაგებზე გაზრდილი კულტურებით

№	კლოსტრიდიები	საცდელ ნიადაგზე გაზრდილი კულტურებით დაინფიცირებული თეთრი თაგვები		საკონტროლო ნიადაგზე გაზრდილი კულტურებით დაინფიცირებული თეთრი თაგვები	
		გადარჩა	მოკვდა	გადარჩა	მოკვდა
1	Cl. perfringens A28	–	6	–	6
2	– " – B216	–	6	–	6
3	– " – D213	–	6	–	6
4	– " – C219	–	6	–	6
5	Cl. Septicum A59	–	6	–	6
6	– " – A113	–	6	–	6
7	Cl. oedematiens A79	–	6	–	6
8	Cl. chauvoei B1	3	3	4	2
9	– " – B16	2	4	2	4
10	Cl. perfringens D49 (avirulent)	6	–	6	–

როგორც ცხრილიდან ჩანს, Cl. chauvoei-ის შემთხვევაში შეინიშნება მცირედი განსხვავება საცდელ ნიადაგთან შედარებით, ისიც აღნიშნული ნიადაგის სასარგებლოდ – მოკვდა სამი. გადარჩა სამი; საკონტროლო ნიადაგზე კი გადარჩა – 4, მოკვდა – 2. რაც შეეხება Cl. per-

fringens D49-ს, ეს კულტურა იყო ატოქსიგენური და ავიღეთ იმისათვის, რომ ცდის შედეგი უფრო თვალსაჩინო ყოფილიყო, მხოლოდ Cl. chauvoei-ის შემთხვევაში თაგვების სიკვდილი გაგრძელებული იყო დროში – 48–72 საათი.

შემდეგი ეტაპი მოიცავდა ზღვის გოჭების დასნებოვნებას, ვინაიდან ეს ცხოველები განსაკუთრებით მგრძნობიარენი არის კლოსტრიდიების მიმართ. ცდაში ავიყვანეთ თითოეულ კულტურაზე 4 ზღვის გოჭი, ინოკულატი შეგვყავდა კანქვეშ ზურგის არეში, დოზით 0,5 მლ (1 მლ შეიცავდა 500 მლნ. მიკრობულ სხეულს). მიკრობული სხეულის კონცენტრაციას ვადგენდით სიმღვრივის სტანდარტის საშუალებით (იხ. ცხრილი 8).

ცხრილი 8

ზღვის გოჭების დასნებოვნება საცდელ და საკონტროლო ნიადაგებზე გაზრდილი კულტურებით

№	კლოსტრიდიები	საცდელ ნიადაგზე გაზრდილი კულტურებით დაინფიცირებული ზღვის გოჭები		საკონტროლო ნიადაგზე გაზრდილი კულტურებით დაინფიცირებული ზღვის გოჭები	
		გადარჩა	მოკვდა	გადარჩა	მოკვდა
1.	Cl. perfringens A28	–	4	–	4
2.	– " – B216	–	4	–	4
3.	– " – D213	–	4	–	4
4.	– " – D49 (avir)	4	–	4	–
5.	– " – C219	1	3	2	2
6.	Cl. Septicum A59	–	4	–	4
7.	– " – A113	–	4	1	3
8.	Cl. oedematiens A79	–	4	–	4
9.	Cl. chauvoei B1	–	4	–	4
10.	– " – B16	–	4	–	4

სურათი 3. საცდელ სისხლიან-გლუკოზიან აგარზე გაზრდილი Cl.perfringens-ის კოლონიები; სრული ჰემოლიზი.

სურათი 4. საცდელ სისხლიან-გლუკოზიან აგარზე გაზრდილი Cl.perfringens-ის კოლონიები; სრული ჰემოლიზი.

სურათი 5. საცდელ თხიერ საკვებ ნიადაგზე გაზრდილი Cl.perfringens-ის უჯრედები; ×30000.

სურათი 6. Cl.perfringens-ის ზრდა საცდელ თხიერ ნიადაგზე, ვილსონ-ბლერის ნიადაგზე, რძეში; საცდელი ნიადაგი ძლიერ შემღვრეულია, სოიოს კაკლები აირის მიერ ამოგდებულია ზევით; ვილსონ-ბლერის ნიადაგი გაშავებულია; რძე შედედებულია, წარმოქმნილია ხაჭოსებური მასა.

სურათი 7. Cl.perfringens-ის კულტურა, რომელიც საცდელი თხიერი ნიადაგიდან გადაითესა რძეში; რძე შედედდა 4–5 საათში, ხაჭოსებური მასის წარმოქმნით.

როგორც ვხედავთ, როგორც წინა ცდაში, განსხვავება ძალზე მცირეა Cl.perfringens C219-ის შემთხვევაში საცდელ ნიადაგზე გაზრდილით 1 გადარჩა, 3 მოკვდა; Cl.perfringens D49 ავირულენტური კულტურით დასნებოვნებული ყველა გადარჩა; Cl.perfringens D213-ით დასნებოვნებული ზღვის გოჭების სიკვდილი გაგრძელებული იყო დროში – 72 საათამდე.

ამგვარად, საცდელი ნიადაგი, რომელიც წარმოადგენს მარცვლეული კულტურების ექსტრაქტს (სოიოს, ხორბლის და სიმინდის), შედარებისას კიტ-ტაროცის ბულიონთან, კლოსტრიდიები ბიომასას აგროვებენ თანაბარი რაოდენობით, გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე იზრდებიან დამახასიათებელი ფორმის კოლონიებით, ჰემოლიზის მეტ-ნაკლები გამჭვირვალე ზონით, კლავენ თეთრ თაგვებს და ზღვის გოჭებს 24–48–72 საათში.

5. კლოსტრიდიების შეწყვილების ცდები ეშერიხიებთან და სტაფილოკოკებთან

ბაქტერიებს შორის მემკვიდრული თვისებების გადაცემა, კერძოდ, კლოსტრიდიებიდან ეშერიხიებზე და სტაფილოკოკებზე, შევისწავლეთ ჩვენს მიერ შეთავაზებული ნიადაგის მაგალითზე, რომ სიმინდის, ხორბლის, სოიოს ექსტრაქტზე კულტივირებული მიკროორგანიზმები შესანიშნავად ექვემდებარებოდნენ შეწყვილების ცდებს, ანუ ბაქტერიებს შორის მყარდებოდა კავშირი ხიდაკის ან უჯრედების გარსის შერწყმით; ეს პროცესი მიკრობიოლოგიაში ცნობილია, როგორც კონიუგაცია. კონიუგაციის დროს ხდება ინფორმაციის ცალმხრივი გადაცემა – დონორიდან რეციპიენტებზე, რა დროსაც გადაეცემა დონორისათვის დამახასიათებელი თვისებები, როგორიცაა ტოქსიგენობა, ანტიგენობა, ჰემოლიზური აქტივობა, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა და სხვ. (**ლედერბერგი ჯ.** და სხვ. 1952, 1964).

დონორულ აქტივობას ბაქტერიულ უჯრედში განსაზღვრავს არაქრომოსომული ელემენტი F-ფაქტორი და ისინი განსაზღვრავენ კონიუგაციის პროცესს; F-ფაქტორი არის არაქრომოსომული ელემენტი, ის იმყოფება დონორ უჯრედში ავტონომიურ მდგომარეობაში და განსაზღვრავს დონორ უჯრედში არსებული პლაზმიდების გადაცემას.

დუნკანი და ავტორები (1978) აღნიშნავენ Cl. perfringens-ის უჯრედში სხვადასხვა პლაზმიდების არსებობას, რომლებიც განსაზღვრავენ ამა თუ იმ ნიშან-თვისების გადაცემას, ვინაიდან მასში დეტერმინირებულია ეს თვისებები, როგორიცაა – ტოქსიგენობა, ანტიგენური თვისებები, ჰემოლიზის უნარი, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა და სხვ., მაგალითად, ენტეროტოქსინის პროდუცირების უნარი სტაფილოკოკებში კოდირდება პლაზმიდური დნმ-ით, ასევე ეშერიხიებში კოლიცინების (**პეროვი**, 1985).

ზოგ შემთხვევაში დონორი და რეციპიენტი უჯრედები წყვილდებიან ერთმანეთთან ხიდაკის გარეშე, გარსების შერწყმის საფუძველზე და ამ პროცესში F-პილი არ მონაწილეობს (**ხონეკერი, მინკლეი**, 1985; **ნაჭყებია ჯ.**, 1992). ჯ. ნაჭყებიას ცდებში დადასტურდა ასეთი შერწყმა კლოსტრიდიებსა და ეშერიხიებს შორის, სტაფილოკოკებსა და ეშერიხიებს შორის, კლოსტრიდიებსა და სტაფილოკოკებს შორის (1992).

მთელი რიგი პირობითად პათოგენური მიკროორგანიზმების პათოგენობა არ შეიძლება ახსნილ იქნეს მხოლოდ მიკროორგანიზმების ბუნებრივი რეზისტენტობის შესუსტებით (სტაფილოკოკები, ეშერიხიები), არამედ იმ მექანიზმის არსებობით, რომელიც უზრუნველყოფს მათში პათოგენობის მატარებელი დეტერმინანტების გადატანას. აღნიშნულ და სხვა სახეობებში ეს დეტერმინანტები ერთ შემთხვევაში ბაქტერიული უჯრედის ქრომოსომაში არიან მოქცეული და მათი გადატანა შეუძლიათ ფაგებს (ტრანსდუქცია), სხვა შემთხვევაში იგივე ფაქტორის განმსაზღვრელი პლაზმიდური დნმ-ია, რომელიც უმეტესად ავტონომიურ მდგომარეობაში იმყოფება ბაქტერიულ უჯრედში და გადაიტანება კონიუგაციის საშუალებით. არ არის გამორიცხული სხვადასხვა დამაზიანებელი ფაქტორების ზემოქმედების შედეგად, ბაქტერიული უჯრედის გარსის და ციტოპლაზმური მემბრანის მთლიანობის დარღვევა, რის შედეგადაც ციტოპლაზმასთან ერთად გამონთავისუფლდება ნუკლეოიდი და განხორციელდება სპონტანური ტრანსფორმაცია.

ნაწლავის ჩხირის მაგალითზე უნდა აღვნიშნოთ, რომ იგი მუდმივი ბინადარია ადამიანისა და ცხოველების ნაწლავების, მონაწილეობს მონელების პროცესში, პროდუცენტია ფართო სპექტრის მქონე ფერმენტებისა, რომლებიც შლიან ცილებს, ცხიმებს, ნახშირწყლებს. მიუხედავად ამისა, მათ შორის ვხვდებით ვარიანტებს, რომლებიც ხასიათდებიან ენტეროპათოგენური და ენტეროტოქსიგენური თვისებებით. ამის ახსნა კი შეიძლება სხვა სახეობის მიკროორგანიზმებთან

თანაცხოვრებისას მათგან პათოგენური (ტოქსიგენური) თვისებების განმსაზღვრელი ფაქტორების მიღებით, მათი სელექციური უპირატესობა კი გამრავლებისა ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმში, საკვებ პროდუქტებში და გარემოს ზოგიერთ სხვა ობიექტზე, განაპირობებს ახალი ნიშან-თვისებების მქონე რასების დაგროვების შესაძლებლობას.

აღნიშნულის დამადასტურებელია ჯ. ნაჭყებიას მიერ (1988, 1989, 1990, 1991, 1992, 1994, 1996, 1997, 1998, 2000, 2001, 2002) ჩატარებული ცდები ტოქსიგენურ კლოსტრიდიებსა, ეშერიხიებსა და სტაფილოკოკებს შორის, როდესაც ტოქსიგენური ანაერობები – Cl. perfringens A, B, C, D ტიპები, Cl. septicum A ტიპი, Cl. oedematiens A ტიპი, Cl. chauvoei A და B ტიპები პათოგენურ, ანტიგენურ, ჰემოლიზურ თვისებებს, რეზისტენტობას ანტიბიოტიკების მიმართ გადასცემდნენ E. coli-სა და სტაფილოკოკების უჯრედებს. ე.ი. ეშერიხიებისა და სტაფილოკოკების პათოგენობა უმეტესწილად განპირობებულია ტოქსიგენურ ანაერობებთან თანაცხოვრებით, განსაკუთრებით ნაწლავებში, სადაც საკვები ნივთიერებების სიუხვე და თერმოსტატული პირობები ხელს უწყობენ მათ თანაცხოვრებას, მაგრამ აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ანაერობების საზიანო მოქმედების შემკავებლად ორგანიზმში ისევ ეშერიხიები გვევლინებიან, რომლებიც ანტაგონისტურად მოქმედებენ კლოსტრიდიებზე და ორგუნავენ მათ ზრდა-განვითარებას, წინააღმდეგ შემთხვევაში ანაერობული მიკროორგანიზმების ძალზე მაღალი კონცენტრაცია და, შესაბამისად, მათ მიერ გამოყოფილი ტოქსინების დიდი რაოდენობა დამღუპველად იმოქმედებდა მიკროორგანიზმებზე. აი, კიდევ ერთი უცილობელი მაგალითი, ეკოლოგიურ ნიშაში თანაარსებობის უზრუნველყოფისა რიცხოვნობის დასარეგულირებლად.

5.1. კლოსტრიდიებისა და ეშერიხიების შეწყვილების ცდები ახალ საკვებ ნიადაგზე

ჯ. ნაჭყებიას მიერ ჩატარებული გამოკვლევებით ჩვენთვის ცნობილი იყო, რომ კლოსტრიდიები თავიანთ ნიშან-თვისებებს გადასცემდნენ ეშერიხიებსა და სტაფილოკოკებს. ჩვენ განვიზრახეთ მსგავსი ცდები ჩაგვეტარებინა შეთავაზებულ საკვებ ნიადაგზე და შეგვემოწმებინა, რამდენად სრულყოფილად იყო შესაძლებელი იგივე შედეგების მიღება, ანუ გადაცემა ტოქსიგენური, ანტიგენური, ჰემოლიზური თვისებების, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის გადაცემა და ა.შ.

შეწყვილებისათვის ავიღეთ Cl. perfringens-ის B216 შტამი, როგორც დონორი და რეციპიენტად გამოვიყენეთ E. coli M1 და M17 შტამები, ასევე ჰაერიდან მიღებული იზოლატები. Cl. perfringens-ის B216 შტამის დონორული თვისებები ჯ. ნაჭყებიას ცდებიდან ცნობილი იყო, მაგრამ არ ვიცოდით E. coli-ს M17 და E. coli-ს იზოლატების რეციპიენტული თვისებები.

წინასწარ შევისწავლეთ მათი ბიოლოგიური თვისებები, დავაფიქსირეთ მათი სასელექციო ნიშნები, კერძოდ, Cl. perfringens-ის B216 ხასიათდებოდა მაღალი ნეკროტოქსიკური თვისებებით (კურდღლებს, კულტურალური სითხის კანში შეყვანისას, მეორე-მესამე დღეზე უვითარდებოდათ ნეკროზი), ასევე აღნიშნულ შტამს ახასიათებდა მდგრადობა სტრეპტომიცინის, ნეომიცინის, მონომიცინის, პოლიმიქსინის, ნალიდიქსის მჟავას მიმართ და მგრძნობელობა პენიცილინისა და ტეტრაციკლინის მიმართ, ხასიათდებოდა ჰემოლიზური აქტივობით.

ეშერიხიების იზოლატები და ეტალონური შტამი M1 იყვნენ ავირულენტური, არ იწვევდნენ ჰემოლიზს, იყვნენ მგრძნობიარე სტრეპტომიცინის, ნეომიცინის, მონომიცინის, პოლიმიქსინის, ნალიდიქსის მჟავას მიმართ და რეზისტენტული პენიცილინის და ტეტრაციკლინის მიმართ;

პენიცილინის მიმართ ყველა იზოლატი და M17 შტამი ამჟღავნებდნენ აბსოლუტურ, ძალიან მაღალ რეზისტენტობას.

როგორც უკვე ითქვა, საკვებ ნიადაგებად გამოვიყენეთ ჩვენს მიერ შეთავაზებული ნიადაგი აერობებისა და ანაერობებისთვის და შესადარებლად კიტ-ტაროცის ბულიონი, სისხლიან-გლუკოზიანი აგარი და ენდოს აგარი. ჩვენს მიერ შეთავაზებული ნიადაგი შედგება მარცვლოვანი კულტურების (სიმინდი, ხორბალი, სოიო) ნახარშისაგან და არ შეიცავს ცხოველური წარმოშობის რაიმე დანამატს, მხოლოდ ემატება NaCl 0,5–0,7%-ის რაოდენობით და pH 7,4–7,6-ის ფარგლებში.

მიკროორგანიზმების შეწყვილებას ვახდენდით ჯ. ნაჭყებიას მიერ შეთავაზებული მეთოდიკით (1992), რისთვისაც დონორსა და რეციპიენტს (Cl. perfringens B216 + E. coli M17 და იზოლატები ჰაერიდან) ვზრდიდით ცალ-ცალკე ჩვენს მიერ შეთავაზებულ ბულიონში (pH 7,4). ნათესების ინკუბაციას ვახდენდით 16 საათის განმავლობაში 37^0C-ზე. შემდეგ ვიღებდით დონორისა და რეციპიენტის უჯრედების ნაზავს შეფარდებით 1:2 (1 ნაწილი დონორი, 2 ნაწილი რეციპიენტი) და ნარევს ვათავსებდით თერმოსტატში 4 საათით. ნარევის ერთ ნაწილს ვაზავებდით 1:1000 გაცივებული ბულიონით (ჩვენი საკვები არე), ხოლო მეორე ნაწილს განზავების გარეშე ვაცივებდით 4^0C-ზე. რეკომბინანტების გამოსავლენად ვიყენებდით სასელექციო ნიადაგებს – ჩვენი რეცეპტით გლუკოზიან აგარს და ენდოს ნიადაგს, რომლებიც შეიცავდა 16 ერთ/მლ სტრეპტომიცინს და 5 ერთ/მლ პენიცილინს.

სასელექციო ნიადაგზე გაზრდილი E. coli M1 შტამისა და ჰაერიდან მიღებული იზოლატების რეკომბინანტი კოლონიები გადაგვქონდა ბულიონში (ჩვენი), ვახდენდით ინკუბირებას 37^0C ტემპერატურაზე 24 საათის განმავლობაში და ვასენიანებდით ბოცვრებს ინოკულატის კანში შეყვანით, დოზით – 0,2 მლ. საკონტროლო ცხოველებს ვასენიანებდით დონორისა (Cl. perfringens B216) და რეციპიენტის (E. coli

M1 და ჰაერიდან E. coli-ს იზოლატები) საწყისი კულტურების იმავე დოზით.

საცდელ ბოცვრებს ინოკულატის შეყვანის ადგილზე განუვითარდათ ანთებითი პროცესი, ქსოვილების შემდგომი ნეკროზით, საკონტროლო ცხოველებს, რომელთაც შევიყვანეთ Cl. perfringens B216, დონორის კულტურალური სითხე, დაეწყო იგივე ცვლილებები, ოღონდ შედარებით მეტი ინტენსივობით. საკონტროლო ბოცვრებს, რომელთაც შევუყვანეთ რეციპიენტის – E. coli M1 შტამი და ჰაერიდან მიღებული იზოლატების საწყისი კულტურა, ცვლილებები არ გამოვლენიათ (იხ. ცხრილი 9).

როგორც ცხრილიდან ჩანს, ტოქსიგენური აქტივობა, მეტწილ შემთხვევაში, გადაეცემა ჰემოლიზურ ფაქტორთან ერთობლივად, ზოგ შემთხვევაში ცალკე. რეკომბინანტების წარმოქმნის სიხშირე ტოქსიგენობის ფაქტორით, გარკვეულწილად ნაკლებია, ვიდრე ჰემოლიზურით. მაშასადამე, ეს ორი ნიშან-თვისება Cl. perfringens-იდან ეშერიხიებს გადაეცემა ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად, რაც მიანიშნებს იმაზე, რომ ისინი არ იმყოფებიან შეჭიდულ მდგომარეობაში და არ არიან განლაგებული დნმ-ის მოლეკულის ერთ ლოკუსში.

ცხრილი 9

საცდელ საკვებ ნიადაგზე გაზრდილი Cl. perfringens B216 შტამიდან ჰემოლიზური და ნეკროტოქსიგენური თვისებების გადაცემა E. coli-ს M1 და ჰაერიდან მიღებულ იზოლატებზე (მწვავე ცდა ჩატარებულია ბოცვრებზე)

მიკრობთა შეჯვარებული წყვილები		რეკომბინანტები ჰემოლიზური აქტივობით 1 მლ საკონიუგაციო ნარევიდან – დონორი + რეციპიენტი	რეკომბინანტების წარმოქმნის სიხშირე	რეკომბინანტები ტოქსიგენური აქტივობით 1 მლ საკონიუგაციო ნარევიდან – დონორი + რეციპიენტი	რეკომბინანტების წარმოქმნის სიხშირე
Cl. perfringens	B216 × E. coli M17	+	$6\cdot10^{-7}$	+	$6\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №1	+	$7\cdot10^{-7}$	–	–
– “ –	იზოლატი №2	+	$8\cdot10^{-8}$	+	$6\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №3	+	$7\cdot10^{-8}$	+	$7\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №4	+	$5\cdot10^{-8}$	+	$3\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №5	+	$5\cdot10^{-8}$	–	–
– “ –	იზოლატი №6	+	$6\cdot10^{-8}$	+	$5\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №7	+	$7\cdot10^{-8}$	+	$5\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №8	+	$6\cdot10^{-8}$	+	$5\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №9	+	$7\cdot10^{-8}$	+	$7\cdot10^{-7}$
– “ –	იზოლატი №10	+	$6\cdot10^{-8}$	+	$6\cdot10^{-7}$

შენიშვნა: + თვისება გადაეცა; – თვისება არ გადაეცა.

5.2. კლოსტრიდიებისა და სტაფილოკოკების შეწყვილების ცდები ახალ საკვებ ნიადაგზე

კლოსტრიდიებიდან ნიშან-თვისებების გადაცემის ცდები დავაყენეთ სტაფილოკოკებთანაც. სტაფილოკოკების იზოლატებს ვღებულობდით ჰაერიდან სედიმენტაციის მეთოდით, რისთვისაც გამოკვლევის ადგილზე, ჰორიზონტალურ სიბრტყეზე ვათავსებთ პეტრის ფინჯნებს შეთავაზებული ნიადაგით (სიმინდის, სორბლის, სოიოს ექსტრაქტი – აგარი – 0,7 NaCl ხსნარი, pH–7,2) თავღიად 5 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ვახურავთ სახურავს და ვათავსებთ თერმოსტატში 37^0C ტემპერატურაზე, დალექილი მიკროორგანიზმების გასაზრდელად; 48 საათის გასვლის შემდეგ ვითვლით გაზრდილი კოლონიების რიცხვს და გადაანგარიშებას ვაწარმოებთ 1 $м^3$ ჰაერის მოცულობაზე.

მიღებული იზოლატებიდან შევარჩიეთ 12 St. albus (epidermidis), შევისწავლეთ მათი კულტურალური, ბიოქიმიური, ვირულენტური თვისებები. ყველა იზოლატი შლიდა გლუკოზას, საქაროზას, მალტოზას, კსილოზას, გლიცერინს; არ ხდებოდა ფერმენტირება მანიტის; იყვნენ მგრძნობიარენი სტრეპტომიცინის მიმართ 5 ერთ/მლ და ავლენდნენ რეზისტენტობას პენიცილინის მიმართ 40 ერთ/მლ-ში და ზევით.

დონორებად გამოვიყენეთ ტოქსიგენური შტამები ანაერობების Cl. perfringens-ის A28, B216, D211, C219; Cl. septicum A69; Cl. oedematiens A79; Cl. chauvoei B1. შეწყვილებას ვაწარმოებდით ზემოთ დასახელებული მეთოდიკის მიხედვით. რეკომბინანტებს ვიღებდით შერჩევით სისხლიან-გლუკოზიანი აგარიდან, რომელიც შეიცავდა 5 ერთ/მლ პენიცილინს და 40 ერთ/მლ სტრეპტომიცინს, დონორებისთვის ნიადაგი შეიცავდა 40 ერთ/მლ სტრეპტომიცინს, რეციპიენტებისთვის 5 ერთ/მლ პენიცილინს.

ნათესების კულტივირებას ვახდენდით აერობულ პირობებში. დონორის ნათესების კულტივირება ხდებოდა ანაერობულ პირობებში. 48–72 საათის შემდეგ საცდელ ფინჯნებზე ვაფიქსირებდით კოლონიებს

ჰემოლიზის ზონით (რეკომბინანტები), იყო კოლონიები ჰემოლიზის გარეშე დიდი უმრავლესობა. კოლონიები რეკომბინანტების, ჰემოლიზის ზონით, იმავდროულად იყვნენ რეზისტენტულები სტრეპტომიცინის მიმართ. გადაგვქონდა ეს კოლონიები საცდელ ბულიონში და 18-საათიანი ინკუბირების შემდეგ ვასენიანებდით თეთრ თაგვებს დოზით 0,5 და 1 მლ მუცლის ღრუში. დასენიანებული თეთრი თაგვები რჩებოდნენ ცოცხალი, ოღონდ იმ განსხვავებით, რომ რომელთაც შევუყვანეთ 1 მლ ინოკულატი, ჰქონდათ გამოხატული კლინიკური ნიშნები. თეთრი თაგვები, რომელთაც შევუყვანეთ დონორის საწყისი კულტურები, იხოცებოდნენ 10–14–18 საათის განმავლობაში დოზით 0,5 მლ, ხოლო ცხოველები, რომელთაც შევუყვანეთ რეციპიენტების კულტურები, გადარჩნენ, რაიმე კლინიკური ნიშნების გარეშე.

სტაფილოკოკების რეკომბინანტები იძენდნენ რეზისტენტობას სტრეპტომიცინის მიმართ და ჰემოლიზურ აქტივობას. რაც შეეხება ვირულენტობის გადაცემას, ეს თვისება გამოხატული იყო სუსტად და თეთრი თაგვები, რომელთაც შევუყვანეთ ინოკულატი 1 მლ-ის რაოდენობით, ავად ხდებოდნენ, მაგრამ გადარჩნენ. ამ საკითხის გასარკვევად რეკომბინანტების კულტურები გამოვიკვლიეთ მანიტის დაშლის და პლაზმოკოაგულაციის თვისებებზე. სამი იზოლატი შვიდიდან (რეკომბინანტები), რომლებიც მიღებული იყო Cl. perfringens-თან შეწყვილებით, ახდენდნენ პლაზმის კოაგულაციას. პლაზმოკოაგულაციის რეაქციას ვაყენებდით 38^0C-ზე; განუზავებელი პლაზმა დედდებოდა 5–8 საათის განმავლობაში, 1:2 განზავებული – 12 საათის განმავლობაში, 1:4 – 18 საათის განმავლობაში. რეციპიენტების 12 შტამიდან Cl. perfringens-ს შეუჯვარდა – 7, Cl. septicum A69 – 3, Cl. oedematiens A79 – 2 და Cl. chauvoei B1 – 2. რეკომბინანტების რიცხვიდან, რომელიც მივიღეთ Cl. septicum-თან შეჯვარებით, ერთი ავლენდა ჰემოლიზურ აქტივობას მანიტის დაშლის დადებითი რეაქციით და ბოცვრის სისხლის პლაზმოკოაგულა-

ციით. რეკომბინანტები, რომლებიც მიღებული იყო Cl. oedematiens-თან და Cl. chauvoei-თან შეჯვარებით, გადაეცათ მხოლოდ სტრეპტომიცინის მიმართ რეზისტენტობა.

რეკომბინანტების ყველა კულტურა, რომლებიც ყოჩის ერითროციტების ჰემოლიზს იწვევდნენ, შლიდნენ მანიტს და იწვევდნენ პლაზმის კოაგულაციას (ბოცვრის სისხლის), გამოვცადეთ ნეკროზულ თვისებებზე ბოცვრის დასენიანებით კანში, სადაც შეგვყავდა 0,2 მლ მიკრობული სხეულის შენაწონი, რომელთა კონცენტრაცია იყო 2 მლრდ., შენაწონის ნაზავი კეთდებოდა NaCl ფიზიოლოგიურ ხსნარში. St. albus რეკომბინანტის კულტურები, რომლებიც ბოცვრებს შევუყვანეთ 5–6 საათის შემდეგ, იწვევდნენ კანის ნეკროზს შეყვანის ადგილზე. ნეკროტოქსიგენობა გადაეცემოდა ისევე, როგორც ენტეროტოქსინისა, მაგრამ ვლინდებოდა შედარებით სუსტად, ვიდრე ეს იყო დონორებში – კლოსტრიდიებში. სავსებით მკაფიოდ ჩანს ჰემოლიზური აქტივობის გადაცემა (იხ. ცხრილი 10).

ცდის მეორე ვარიანტი ხორციელდებოდა შემდეგნაირად: მას შემდეგ, რაც დონორისა და რეციპიენტის კულტურების ინკუბირება ხდებოდა 6 სთ, მათი ინოკულატით უშუალოდ, რეკომბინანტების კოლონიების გადარეცხვის გარეშე მყარი ნიადაგიდან, ვასენიანებდით თეთრ თაგვებს. მასალა შეგვყავდა მუცლის ღრუში დოზით 0,5 და 1 მლ. 0,5 მლ-ით დასენიანებული თეთრი თაგვები რჩებოდნენ ცოცხალი, ხოლო დოზით 1 მლ იხოცებოდნენ 2–3 ხუთი დასენიანებული ცხოველიდან. საკონტროლო ცხოველები, რომლებიც დასენიანებული იყვნენ ჩვენი ბულიონიდან, რჩებოდნენ ცოცხალი, ხოლო დონორების კულტურებით დასენიანებული ცხოველები იღუპებოდნენ (დონორები, რომლებიც ჩათესილი იყო ჩვენს ბულიონში დაბალი სვეტით, სოიოს მარცვლების გარეშე და ვაზელინის გარეშე, არ იზრდებოდნენ და არ აგროვებდნენ (გამოყოფდნენ) ტოქსინს, შესაბამისად არც თაგვები იღუპებოდნენ.

ცხრილი 10

ტოქსიგენური ანაერობების შეჯვარების შედეგები სტაფილოკოკებთან საცდელ საკვებ ნიადაგზე

რეციპიენტი სტაფილოკოკების შტამების რაოდენობა	დონორის შტამები	გადასაცემი ნიშან-თვისებები კლოსტრიდიებიდან სტაფილოკოკებზე					
		ჰემოლიზური აქტივობა	ლეციტალური თვისებები	დერმონეკროზული თვისებები	ჰლაზმოკოაგულაციის უნარი	მანიტის დაშლა	სტრეპტომიცინის მიმართ მდგრადობა
12 შტამი	Cl. perfringens						
	A28	5/12	3/12	3/12	2/12	–	7/12
	B216	5/12	4/12	4/12	3/12	–	6/12
	C219	3/12	1/12	2/12	2/12	–	5/12
	D211	4/12	2/12	2/12	3/12	–	5/12
	Cl. septicum						
	A59	2/12	1/12	1/12	1/12	1/12	3/12
	Cl. oedematiens						
	A79	1/12	0/12	1/12	1/12	0/12	3/12
	Cl. Chauvoei						
	B1	2/12	0/12	0/12	0/12	0/12	4/12

შენიშვნა: მრიცხველში შტამების რაოდენობა, რომელთაც რეკომბინაციის უნარი გააჩნიათ, მნიშვნელში – რეციპიენტების რაოდენობა

თეთრ თაგვებს, რომლებიც დაიხოცნენ საცდელი ინოკულატისაგან, ვკვეთდით და ვახდენდით ამოთესვას გულის სისხლიდან ჩვენს ბულიონში, გლუკოზიან-სისხლიან აგარში, რომელიც შეიცავდა 5 ერთ/მლ პენიცილინს და 40 ერთ/მლ სტრეპტომიცინს. ნათესების ინკუბირებას ვახდენდით აერობულ პირობებში 24 სთ განმავლობაში. ზრდა მიმდინარეობდა როგორც თხიერ, ასევე მყარ ნიადაგზე. ნაცხების მიკროსკოპირებისას ჩანდა მხოლოდ სტაფილოკოკების უჯრედები, რომლებიც გრამის წესით იღებებოდნენ დადებითად. მყარ ნიადაგზე იყო კოლონიები როგორც ჰემოლიზით, ისე მის გარეშე. საშუალოდ გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე იზრდებოდა 5–6 კოლონია, მათგან 1–2 ჰემოლიზით. მყარ ნიადაგზე გაზრდილი რეკომბინანტების კოლონიები ამოვთესეთ ბულიონში (საცდელი); გაზრდილი კულტურები შევამოწმეთ ლეტალურ, ნეკროზულ, პლაზმოკოაგულაციის, ფერმენტაციულ თვისებებზე. რეკომბინანტების კულტურები 5 და მეტი პასაჟირებისას ჩვენს ბულიონში, ინტერვალით 1 თვე, ინარჩუნებდნენ ჰემოლიზურ აქტივობას, რეზისტენტობას სტრეპტრომიცინის მიმართ, ვირულენტობას და სხვ.

ამგვარად, როგორც წინა ცდის ვარიანტში, რეციპიენტების შტამებს (სტაფილოკოკები) გადაეცემოდა ჰემოლიზური, დერმონეკროზული, ლეტალური თვისებები, რეზისტენტობა სტრეპტომიცინის მიმართ.

სურათი 8. საცდელ საკვებ ნიადაგზე Cl. perfringens-ისა და სტაფილოკოკების შეწყვილება დაბალ ტემპერატურაზე

5.3. ახალ საკვებ ნიადაგზე E.coli-ს კლოსტრიდიალური რეკომბინანტებისაგან დამზადებული ვაქცინის იმუნოგენური თვისებების შესწავლა

როგორც ზემოთ იყო ნაჩვენები, ახალ საკვებ ნიადაგზე შეწყვილების ცდების ჩატარების შემდეგ საინტერესო იყო მიღებული რეკომბინანტების იმუნოგენური თვისებების შესწავლა, რისთვისაც ავიღეთ E. coli M1, რომელსაც გადავეცით ტოქსიგენური თვისებები ანაერობებისაგან. E. coli M1-ის ავირულენტურ შტამს ვაჯვარებდით ცალ-ცალკე Cl. perfringens-ის A28, B216, C219, D211; Cl. Septicum-ის A53; Cl. oedematiens-ის A79 და Cl. chauvoei B1-თან. თითოეული შეჯვარებული წყვილიდან გადავარჩევდით რეკომბინანტებს E. coli M1 გადაცემული ენტეროტოქსინის სინთეზის თვისებით და ვამზადებდით მათგან მონოვაქცინებს. წინასწარ ვამოწმებდით რეციპიენტის E. coli M1 შტამის იდენტურობას რეკომბინანტებთან კულტურალური და ბიოქიმიური თვისებების მიხედვით, ასევე გადაცემული ფაქტორის, ტოქსინის პროდუცირების უნარს. იდენტიფიცირებული რეკომბინანტების კულტურებს ვთესავდით ენდოს აგარზე, ინკუბირებას ვახდენდით 24 სთ განმავლობაში 37^0C-ზე; გაზრდილი კოლონიები, დამახასიათებელი S-ფორმით, გადაგვქონდა საცდელ ბულიონში, სადაც შეგვქონდა 0,5% გლუკოზა, ვაჩერებდით თერმოსტატში 37^0C-ზე 18 საათით, სანამ მიკრობების კონცენტრაცია არ მიაღწევდა 4 მლრდ. მ.სხ/მლ-ში, ვუმატებდით 0,4% ფორმალინს და ინკუბირებას ვახდენდით 5 დღე-ღამის განმავლობაში 37^0C-ზე; pH ვაყენებდით 7,4 დონეზე. შემდეგ ვამოწმებდით სტერილურობაზე (ჩათესვა აერობულ პირობებში) და უვნებლობაზე (1 მლ ვაქცინის შეყვანა კანქვეშ თეთრ თაგვებში, 3 მლ – ზღვის გოჭებში, 4 მლ – ბოცვრებში).

იმუნური აქტივობის შესასწავლად ვიყენებდით როგორც მონოვაქცინებს, ასევე პოლივალენტურს (მონოვაქცინებს ვაერთებდით თანაბარი მოცულობით).

მონო და პოლივალენტური ვაქცინების აქტიურობა შევამოწმეთ ცხოველებზე; ვადარებდით მის აქტიურობას E. coli M1 შტამის საწყისი კულტურისაგან დამზადებულ ვაქცინას. იმუნურ აქტივობას ვამოწმებდით აცრილი ცხოველების დასენიანებით დონორების ვირულენტური კულტურებით (Cl. perfringens, Cl. septicum, Cl. oedematiens, Cl. chauvoei), ხოლო პოლივალენტურს დამატებით E. coli-ს ვირულენტური შტამებით (09, 0127, 078, 08, 02).

ცდები თეთრ თაგვებზე. ავიყვანეთ თეთრი თაგვების 9 ჯგუფი ცოცხალი მასით 18–20 გ. პირველი 7 ჯგუფი (თითოეულში 10 ცხოველი) იმუნიზირება მოვახდინეთ ვაქცინებით, რომელიც დამზადებული იყო E. coli-ს M1 შტამის რეკომბინანტებისაგან:

– 1 ჯგუფი – Cl. perfringens A28 × E. coli M1
– 2 ჯგუფი – Cl. perfringens B216 × E. coli M1
– 3 ჯგუფი – Cl. perfringens C219 × E. coli M1
– 4 ჯგუფი – Cl. perfringens D211 × E. coli M1
– 5 ჯგუფი – Cl. septicum A59 × E. coli M1
– 6 ჯგუფი – Cl. oedematiens A79 × E. coli M1
– 7 ჯგუფი – Cl. chauvoei B1 × E. coli M1

მერვე ჯგუფი (28 თეთრი თაგვი) ავცერით ვაქცინით რეციპიენტის საწყისი კულტურით E. coli M1 (პირველი კონტროლი), ხოლო მეცხრე ჯგუფი (28 თეთრი თაგვი) დავტოვეთ სუფთად (მეორე კონტროლი). ცხოველებს ვცრიდით ორჯერად, ინტერვალით 12 დღე, ზურგის არეში – კანქვეშ. მეათე დღეს მეორე აცრიდან ჩავატარეთ საკონტროლო დასენიანება შესაბამისი საწყისი ვირულენტური დონორების კულტურებით (Cl. perfringens A28, B216, C219, D211; Cl. septicum A59; Cl. oedematiens A79; Cl. chauvoei B1); საკონტროლო დასენიანების შედეგები მოცემულია ცხრილში 11.

ცხრილი 11

იმუნიტეტის დაჭიმულობა თეთრ თაგვებში, რომლებიც აცრილია E. coli-ს კლოსტრიდიალური რეკომბინანტებით

№	ცხოველთა ჯგუფები	ცხოველთა რაოდენობა	მიკრობთა შტამები და დოზები დასენიანებისათვის	შედეგი	
				გადარჩა	მოკვდა
1.	აცრილი ცხოველები E. coli M1 რეკომბინანტებით, რომელიც მიღებულია Cl. perfringens-ის A28 შეჯვარებით	10	Cl. perfringens A28 2DLM	10	–
2.	აცრილი ცხოველები E. coli M1 რეკომბინანტებით, რომელიც მიღებულია Cl. perfringens-ის B216 შეჯვარებით	10	Cl. perfringens B216 2DLM	10	–
3.	აცრილი ცხოველები E. coli M1 რეკომბინანტებით, რომელიც მიღებულია Cl. perfringens-ის C219 შეჯვარებით	10	Cl. perfringens C219 2DLM	9	1
4.	აცრილი ცხოველები E. coli M1 რეკომბინანტებით, რომელიც მიღებულია Cl. perfringens-ის D211 შეჯვარებით	10	Cl. perfringens D211 2DLM	10	–
5.	აცრილი ცხოველები E. coli M1 რეკომბინანტებით, რომელიც მიღებულია Cl. septicum-ის A59 შეჯვარებით	10	Cl. septicum A59 2DLM	10	–
6.	აცრილი ცხოველები E. coli M1 რეკომბინანტებით, რომელიც მიღებულია Cl. chauvoei B1 შეჯვარებით	10	Cl. chauvoei B1 2DLM	8	2
7.	აცრილი ცხოველები E. coli M1 რეკომბინანტებით, რომელიც მიღებულია Cl. oedematiens A79 შეჯვარებით	10	Cl. oedematiens A79 2DLM	9	1
	კონტროლი				
8.	აცრილი ცხოველები რეციპიენტის საწყისი შტამისაგან E. coli M1 (პირველი კონტროლი)	28	ოთხი თეთრი თაგვი დონორის თითოეულ შტამზე 2DLM	–	28
9.	აუცრელი ცხოველები (მეორე კონტროლი)	28	ოთხი თეთრი თაგვი დონორის თითოეულ შტამზე 2DLM	–	28

როგორც ცხრილი 11-დან ჩანს, მონოვაქცინები, რომლებიც დამზადებულია E. coli M1 შტამის კლოსტრიდიალური რეკომბინანტებისაგან, გააჩნდათ იმუნოგენური თვისებები და იცავდნენ ცხოველებს დაღუპვისაგან შესაბამისი დონორის საწყისი კულტურებით დასენიანებისას, რაც, თავის მხრივ, წარმოადგენს მტკიცებას, რომ განხორციელდა პათოგენობის გადაცემა კლოსტრიდიებიდან ეშერიხიებზე. ვაქცინა საწყისი რეციპიენტული შტამის E. coli M1-დან იმუნოგენური თვისებებით არ ხასიათდებოდა არც ერთი გამოყენებული დონორის შტამის მიმართ (ყველა დასენიანებული თაგვი მოკვდა); მოკვდა ასევე სუფთად დატოვებული თეთრი თაგვები.

ამგვარად, ტოქსიგენური კლოსტრიდიების უჯრედებიდან E. coli-ს უჯრედებში ხდება გადაცემა ეკზოტოქსინის სინთეზის, რომელიც განაპირობებს იმუნოგენურ თვისებებს და იმუნიტეტის გამომუშავებას ვაქცინირებულ ცხოველებში დონორის ვირულენტური შტამების წინააღმდეგ.

ამის შემდეგ გამოვცადეთ პოლივალენტური ვაქცინა, რომლის სავაქცინე შტამები გაზრდილი იყო სიმინდის, ხორბლის და სოიოს ექსტრაქტზე. დამზადებული მონოვაქცინები თანაბარი მოცულობით შევურიეთ ერთმანეთს და მათი იმუნოგენური აქტივობა რეციპიენტ შტამთან ერთად (E. coli M1) შევამოწმეთ თეთრ თაგვებზე.

ავიყვანეთ სამი ჯგუფი თეთრი თაგვებისა წონით 18–20 გ 70 სული თითოეულში (ორი საცდელი და ერთი კონტროლი). პირველი ჯგუფი თეთრი თაგვებისა ავცერით პოლივალენტური ვაქცინით, მეორე – საწყისი რეციპიენტის E. coli M1-გან დამზადებული ვაქცინით, მესამე, სუფთა დავტოვეთ საკონტროლოდ. ცხოველებს ვცრიდით ორჯერად 12 დღის ინტერვალით, დოზით 0,5 მლ, კანქვეშ ზურგის არეში. 21-ე დღეზე, ვაქცინაციის დამთავრების შემდეგ, ვახდენდით საკონტროლო დასენიანებას დონორების ვირულენტური კულტურებით (Cl. perfringens

A28, B216, D211; Cl. septicum A59; Cl. oedematiens A79) და ვირულენტური კულტურებით E. coli, რომლებიც ეკუთვნოდნენ სხვადასხვა სეროჯგუ-ფებს (02, 08, 09, 0127, 078). თითოეულ კულტურაზე აყვანილი იყო 7 თეთრი თაგვი, რომელთაც ვასნებოვნებდით 2DLM მოცულობით 0,5 მლ (სასიკვდილო დოზას თითოეულ კულტურაზე ვსაზღვრავდით ცალკე, თეთრ თაგვებზე გატიტვრით); ცდის შედეგები იხილეთ ცხრილში 12.

ცხრილი 12

პოლივალენტური ვაქცინით იმუნიზირებულ თეთრ თაგვებში
იმუნიტეტის დაძაბულობა

ცხოველთა ჯგუფები	ცხოველების რაოდენობა	შტამები დასენიანებისთვის	ცხოველების რაოდ. შტამზე	დასენიანების ხერხი	დოზა DLM	შედეგი	
						გადარჩა	მოკვდა
პოლივალენტური ვაქცინით იმუნიზირებული	70	Cl. perfringens A28	7	კანქვეშ ზურგის არეში	ორი	7	–
		Cl. perfringens B216	7			6	1
		Cl. perfringens D211	7			7	–
		Cl. septicum A59	7			6	1
		Cl. oedematiens A79	7			7	–
		E. coli 0101	7			7	–
		E. coli 0111	7			7	–
		E. coli 0119	7			7	–
		E. coli 09	7			7	–
		E. coli 0128	7			7	–
კონტროლი							
საწყისი რეციპიენტის შტამით აცრილი ცხოველები	70	Cl. perfringens A28	7	კანქვეშ ზურგის არეში	ორი	–	7
		Cl. perfringens B216	7			–	7
		Cl. perfringens D211	7			–	7
		Cl. septicum A59	7			–	7
		Cl. oedematiens A79	7			–	7
		E. coli 0101	7			–	7
		E. coli 0111	7			–	7
		E. coli 0119	7			–	7
		E. coli 09	7			1	6
		E. coli 0128	7			–	7

კონტროლი ცხოველები ვაქცინირების გარეშე	70	Cl. perfringens A28	7	კანქვეშ ზურგის არეში	ორი	–	–
		Cl. perfringens B216	7			–	–
		Cl. perfringens D211	7			–	–
		Cl. septicum A53	7			–	–
		Cl. oedematiens A79	7			–	–
		E. coli 0101	7			–	–
		E. coli 0111	7			–	–
		E. coli 0119	7			–	–
		E. coli 09	7			1	6
		E. coli 0128	7			–	–

როგორც ცხრილი 12-დან ჩანს, კარგად გამოხატული იმუნიტეტი აღმოაჩნდა ცხოველებს, რომლებიც ავცერით პოლივალენტური ვაქცინით, ის იცავდა ცხოველებს დაღუპვისაგან ანაერობების (დონორები) ტოქსიგენური კულტურებით დასენიანებისას, ასევე E. coli-ს ვირულენტური სეროჯგუფებისაგან; ვაქცინა საწყისი რეციპიენტის შტამისაგან (E. coli M1) იმუნოგენური თვისებებით არ ხასიათდებოდა.

ცდები ზღვის გოჭებზე. ცდაში ავიყვანეთ ზღვის გოჭების 2 ჯგუფი; საცდელ ჯგუფში 40 ცხოველის იმუნიზირება ჩავატარეთ ზემოთ ნაჩვენები პოლივალენტური ვაქცინით დოზით 1 მლ, კანქვეშ ზურგის არეში. 21-ე დღეზე ვაქცინის განმეორებითი შეყვანიდან მოვახდინეთ საკონტროლო დასენიანება საწყისი ვირულენტური კულტურებით (Cl. perfringens, Cl. septicum, Cl. oedematiens, Cl. chauvoei).

მიკრობთა კულტურები წინასწარ გავტიტრეთ ზღვის გოჭებზე და ცდაში გამოვიყენეთ 2DLM. ცდის შედეგები მოცემულია ცხრილში 13.

როგორც ცხრილი 13-დან ჩანს, საცდელი პოლივალენტური ვაქცინა კარგი იმუნოგენური თვისებებით ხასიათდებოდა ზღვის გოჭების აცრისას, საკონტროლო დასენიანებისას ამ ვაქცინით აცრილი ცხოველები ყველანი გადარჩნენ.

ცხრილი 13

პოლივალენტური ვაქცინით იმუნიზირებულ ზღვის გოჭებში იმუნიტეტის დაძაბულობა

ცხოველთა ჯგუფები	ცხოველების რაოდენობა	დასენიანებისთვის გამოყენებული მიკრობთა შტამები	ცხოველების რაოდ. შტამზე	დასენიანების ხერხი	დოზა DLM	შედეგი	
						გადარჩა	მოკვდა
პოლივალენტური ვაქცინით აცრილები	40	Cl. perfringens A28	4	კანქვეშ ზურგის არეში	ორი	4	–
		Cl. perfringens B216	4			4	–
		Cl. perfringens D211	4			4	–
		Cl. septicum A59	4			4	–
		E. coli 0101	4			4	–
		E. coli 0111	4			4	–
		E. coli 0119	4			4	–
		E. coli 09	4			4	–
		E. coli 0128	4			4	–
საკონტროლო ვაქცინირების გარეშე	20	Cl. perfringens A28	2	კანქვეშ ზურგის არეში	ორი	–	2
		Cl. perfringens B216	2			–	2
		Cl. perfringens D211	2			–	2
		Cl. septicum A59	2			–	2
		Cl. oedematiens A79	2			–	2
		E. coli 0101	2			–	2
		E. coli 0111	2			–	2
		E. coli 0119	2			–	2
		E. coli 09	2			–	2
		E. coli 0128	2			–	2

ცდები მაკე ფურებზე. E. coli-ს კლოსტრიდიალური რეკომბინანტები, რომლებიც გაიზარდნენ მარცვლოვანი კულტურებისაგან დამზადებულ ნიადაგებზე (თხიერი და მყარი) და მათგან დამზადებული პოლივალენტური ვაქცინებით, კოლოსტრალური იმუნიტეტის მისაღებად, აიცრა მაკე ფურები 7–7,5 თვისა. ცდა ჩატარდა 42 სულ ძროხაზე.

საცდელ ცხოველებს ვცრიდით ორჯერად 14 დღის ინტერვალით დოზით 3 და 5 მლ კუნთში, გავის მიდამოში, აიცრა 21 ცხოველი;

საკონტროლო ცხოველები (21 სული) დავტოვეთ აუცრელად. ორივე ჯგუფის ცხოველებს ვაყენებდით ერთნაირ პირობებში.

იმუნიზაციის წინ და მეთექვსმეტე დღეზე მეორე აცრიდან ვამოწმებდით აგლუტინაციის ტიტრს აგლუტინაციის რეაქციით სისხლის შრატში კოლიბაქტერიოზის აღმძვრელის წინააღმდეგ. იმუნიზაციის დაწყებამდე აგლუტინინების ტიტრი არ ჭარბობდა 1:5, ხოლო იმუნიზაციის შემდეგ გაიზარდა 1:250 – 1:400.

2–2,5 თვის განმავლობაში საცდელი და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებმა იმშობიარეს, ერთი თვის განმავლობაში ვახდენდით მეთვალყურეობას ახალშობილებზე. ყურადღებას ვაქცევდით ხსენის დროულად მიღებას როგორც საცდელ ხბოებზე, ისე საკონტროლოზე. მეთვალყურეობის პერიოდში საცდელი ჯგუფის ხბოების კუჭ-ნაწლავის აშლილობა არ დაფიქსირებულა, საკონტროლო ჯგუფში დაავადდა 12 (57,14%). დიაგნოზს კოლიბაქტერიოზზე ვადასტურებდით ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევით.

ამგვარად, პოლივალენტური ვაქცინა, რომელთა დასამზადებლად გამოვიყენეთ სიმინდის, ხორბლის, სოიოს ექსტრაქტი, აღმოჩნდა ეფექტური საშუალება კოლიბაქტერიოზის საწინააღმდეგოდ.

6. ზოგიერთი ბიოლოგიური, ქიმიური და ფიზიკური ფაქტორების გავლენა Cl.perfringens-ის თვისებებზე

ა) იმუნური შრატის გავლენა

ჩვენ გვაინტერესებდა მარცვლოვანი კულტურების ნიადაგზე სტაბილური ავირულენტური ვარიანტების მიღება იმუნური შრატის ზემოქმედებით. ამისათვის გამოვიყენეთ Cl. perfringens-ის 5 შტამი A28, B(LD–1), D91, D213, D218. ბიოლოგიურ ფაქტორად ავიღეთ Cl. perfringens-ის A28 შტამის ჰომოლოგიური შრატი. წინასწარ გავტიტრეთ თეთრ თაგვებზე შრატის აქტიურობა; 0,2 მლ შრატი ანეიტრალებდა Cl. perfringens-ის 0,5 მლ კულტურას მიკრობული სხეულის კონცენტრაციით $2 \cdot 10^8$ 1 მლ-ში მარცვლოვანი კულტურის თხიერ ნიადაგზე. გამოვიყენეთ 8 საათიანი ნაზარდი კულტურა.

ცდისათვის თანაბარი რაოდენობის კულტურისა და შრატის ნარევის ინკუბირება მოვახდინეთ 37^0C-ზე 45 წუთის განმავლობაში და შემდგომ ეს ნარევი დავთესეთ საცდელი ნიადაგის ბულიონში ანაერობებისათვის; 8 საათიანი ინკუბირების შემდეგ გაზრდილი კულტურა ხელახლა ავურიეთ თანაბარი რაოდენობის შრატთან და მოვათავსეთ თერმოსტატში იმავე რეჟიმში. ყოველი მესამე პასაჟის შემდეგ Cl. perfringens A28 ვამოწმებდით თეთრ თაგვებზე, ოღონდ წინასწარ ვახდენდით ორჯერად გადათესვას აღნიშნულ ბულიონში.

6 პასაჟის განმავლობაში კულტურის ვირულენტობის დასუსტებას არ ჰქონდა ადგილი, 9 პასაჟიდან ვირულენტობამ დაიწყო დასუსტება; სულ 18 პასაჟი ჩატარდა შრატთან ერთად.

Cl. perfringens-ის A28 კულტურას, რომელიც 18-ჯერ იყო პასირებული ჰომოლოგიურ შრატთან ერთად, სამჯერ გადავთესეთ

საცდელ ბულიონში და შემდეგ 12-საათიანი კულტურით ვასნებოვნებდით თეთრ თაგვებს (იხ. ცხრილი 14).

ცხრილი 14

ჰომოლოგიური შრატის გავლენა Cl. perfringens-ის ვირულენტურ თვისებებზე

კულტურები	თეთრი თაგვების რაოდ.	დასნებოვნების ხერხი	კულტურის დოზა DLM	თეთრი თაგვების დაღუპვის დრო, სთ					შედეგი	
				24	48	72	96	120	გადარჩა	მოკვდა
Cl.perfringens A28 პასირებული ჰომოლოგიურ შრატში	12	კანქვეშ	5	–	2	–	–	–	10	2
Cl.perfringens A საწყისი	12		5	12	–	–	–	–	–	12

როგორც ცხრილი 14-დან ჩანს, Cl.perfringens-ის A28 კულტურამ, რომელიც 18-ჯერ იყო პასირებული შრატთან ერთად ბულიონში, ნაწილობრივ დაკარგა ვირულენტობა, მაგრამ მცირედ დაკარგულ ვირულენტობასაც ჩქარა აღადგენდა სისხლიან-გლუკოზიან აგარში გადათესვისას.

სხვა თვისებების რაიმე შესამჩნევი ცვლილებები არ ყოფილა.

იმ მიზნით, რომ სტაბილურად შეგვენარჩუნებინა ვირულენტობის დასუსტება, Cl.perfringens A28, რომელიც 18-ჯერ იყო პასირებული ჰიპერიმუნურ შრატთან ერთად, ვიმოქმედეთ დაბალი ტემპერატურით +4^{0}C. ამისათვის ვიღებდით თანაბარი რაოდენობით კულტურას და შრატს, ვაერთებდით ერთმანეთთან სინჯარაში, ვათავსებდით თერმო-

სტატში 37^0C-ზე 45 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ამ სინჯარას ვდგამ-დით მაცივარში $+4^0$C-ზე 30 წუთით. ამ დროის გასვლის შემდეგ ნარევს (კულტურა + ჰომოლოგიური ჰიპერიმუნური შრატი) ვთესავდით ბული-ონში (ჩვენი). ლაგ-ფაზა გრძელდებოდა 9–10 საათი, შემდეგ იწყებოდა კულტურის ნორმალური ზრდა.

ამგვარად, ხანგრძლივი დროით შენახვისას კულტურა ჰომოლო-გიურ შრატთან მცირე მოცულობით (2 მლ) აერობულ პირობებში (ნარევი არ იყო დაცული ვაზელინის ზეთით ატმოსფეროს ჰაერის ზემოქმედებისაგან) არ კარგავდა სიცოცხლისუნარიანობას. ზრდა მარცვლოვანი კულტურების ბულიონში ანაერობებისათვის იყო უხვი, აირების ინტენსიური გამოყოფით. ეს მიუთითებს Cl.perfringens-ის მაღალ რეზისტენტობაზე და შეგუებაზე შეცვლილი გარემო პირობების მიმართ.

ჩვენს ბულიონში Cl.perfringens A28, რომელიც დამუშავდა ზემოთ ნაჩვენები რეჟიმით, პასირებულ იქნა კიდევ 4-ჯერ და შემდეგ 12-საა-თიანი კულტურით დავასნებოვნეთ თეთრი თაგვები.

თეთრი თაგვები, რომლებიც დავასნებოვნეთ Cl.perfringens-ის A28 და რომელიც დავამუშავეთ ჰომოლოგიური შრატით დაბალ ტემპერატუ-რაზე, გადარჩნენ, ხოლო საკონტროლო თაგვები, რომლებიც დავასე-ნიანეთ Cl.perfringens A28 საწყისი კულტურით, დაიხოცნენ.

დასუსტებული კულტურის პასაჟს ბულიონში (ჩვენი) ვაგრძე-ლებდით მანამ, სანამ არ მოხდა ვირულენტობის სრული აღდგენა, მე-7 პასაჟიდან კულტურა თანდათანობით აღიდგენდა ვირულენტობას და მე-9 პასაჟზე მოხდა ვირულენტობის სრული აღდგენა. მორფოლო-გიური, კულტურალური და ბიოქიმიური თვისებები უცვლელი დარჩა.

ამგვარად, სტაბილური ცვლილებები Cl. perfringens-ის კულტურაში, ჰომოლოგიური შრატის მეშვეობით, მიღწეული ვერ იქნა.

ბ) სტრეპტომიცინის გავლენა Cl.perfringens-ის თვისებებზე

გამოკვლევები ჩავატარეთ, რომ შეგვესწავლა Cl.perfringens-ის შტამებზე A28, B(LD–1), D213, D218 სტრეპტომიცინის გავლენა და შესაძლო მუტაციები, რომელიც შეუძლია სტრეპტომიცინმა გამოიწვიოს, მისი კონცენტრაციის თანდათანობითი გაზრდით, შესაძლო ცვლილებები მის ბიოლოგიურ თვისებებში.

წინასწარ ვსაზღვრავდით საწყის მგრძნობელობას სტრეპტომიცინის მიმართ, ამისათვის ვიყენებდით ჩვენს ბულიონზე დამზადებულ სისხლიან-გლუკოზიან აგარს, რომელიც შეიცავდა სტრეპტომიცინის შემდეგ კონცენტრაციებს: 50, 200, 300, 400, 500, 600 და 800 ერთ/მლ.

შტამი A28-თვის ზღვრული კონცენტრაცია იყო 800 ერთ/მლ, როდესაც აგარზე იზრდებოდნენ ერთეული კოლონიები, შტამი B(LD–1)-თვის იყო 400 ერთ/მლ-ში, D213 და D218-ისთვის იყო 500 ერთ/მლ. დასათესი მასალა შეგვქონდა 0,05 მლ-ის ოდენობით, მიკრობთა კონცენტრაცია იყო $2 \cdot 10^9$.

Cl.perfringens-ის ადაპტაციას სტრეპტომიცინის მიმართ ვახდენდით სხვადასხვა ხერხებით:

1) სერიული პასაჟით და სტრეპტომიცინის კონცენტრაციის საფეხურებრივი გაზრდით ჩვენს ბულიონში ანაერობებისათვის;
2) მონაცვლეობით სტრეპტომიცინით და სტრეპტომიცინის გარეშე;
3) კოლონიების ამოთესვა აგარიდან, სადაც სტრეპტომიცინის კონცენტრაცია იყო უმაღლესი.

ცდებში გამოვიყენეთ ჩვენი ბულიონი და აგარი ანაერობებისათვის, pH იყო, ორივე შემთხვევაში, 7,4; ამინური აზოტი შეადგენდა 160 მგ%.

სტრეპტომიცინთან კონტაქტამდე შევისწავლეთ გამოსაკვლევ ნიადაგებზე Cl.perfringens-ის შტამების კულტურალური, ბიოქიმიური, ვირულენტური თვისებები.

ადაპტაციას ვიწყებდით ჩვენს ბულიონში, რომელსაც ვუმატებდით 0,5% გლუკოზას. პასაჟი საკვლევ ნიადაგებზე სტრეპტომიცინის 300ერთ/მლ კონცენტრაციით. პირველ პასაჟებზე კონცენტრაციას ვზრდიდით 100 და 200 ერთ/მლ. გაზრდილ კულტურას ხელახლა გადავიტანდით სტრეპტომიცინიან არეში კულტურის თავისუფლად ზრდისას 2000 ერთ/მლ-ზე, შემდეგში კონცენტრაციას ვზრდიდით 500ერთ/მლ. პარალელურად კონტროლის სახით ვახდენდით გადათესვას ჩვენს მყარ ნიადაგზე. კულტურები, რომლებიც იზრდებოდნენ თხიერ ნიადაგზე სტრეპტომიცინის კონცენტრაციით 2500 ერთ/მლ, გადაგვქონდა ასეთივე კონცენტრაციის აგარზე. აღნიშნული კონცენტრაციით Cl.perfringens A28 და D(LD–1) ზრდა იყო ტიპიური, კოლონიები იყო მრგვალი, ამობურცული, სწორი კიდეებით, კარგად გამოხატული ჰემოლიზით; შტამი 213 და 218-ის კოლონიები იყო დანაოჭებული, ხეშეში ზედაპირით, უსწორო კიდეებით, მკაფიო ჰემოლიზით. ნაცხების მიკროსკოპირებისას D213 შტამის უჯრედები იყვნენ განსხვავებული ფორმის – გრძელი, წვრილი ჩხირები როგორც გრამდადებითი, ისე გრამუარყოფითი. თითოეული შტამის შერჩეული კოლონიები გადაგვქონდა ბულიონში (ჩვენი) და 12-საათიანი კულტურით ვასენიანებდით თეთრ თაგვებს (მონაცემები იხილეთ ცხრილში 15).

ცხრილი 15

კულტურის ვირულენტობის შემოწმება, რომლებიც მიღებულია სტრეპტომიცინის 2500 ერთ/მლ ადაპტირებით

კულტურა	კულტურის დოზა	თეთრი თაგვების რაოდ.	შეყვანის ხერხი	გადარჩა	მოკვდა

Cl. perfringens A28 B(LD–1) D213	 0,5 0,5 0,5	 16 16 16	კანქვეშ	 – – 12	 14–18 საათში 10–14 საათში 4 მოკვდა 36 საათში

ცხრილი 15-დან ჩანს, რომ D213-ის R-ფორმის კოლონიები გააჩნიათ სუსტად გამოხატული ვირულენტობა.

პარალელურად ვასენიანებდით თეთრ თაგვებს კულტურებით, რომლებიც 6-ჯერ იყვნენ პასირებულნი და იზრდებოდნენ 3000 ერთ/მლ სტრეპტომიცინის კონცენტრაციით. დასენიანებამდე კულტურები ორჯერ გადავთესეთ ბულიონში (ჩვენი) სტრეპტომიცინის გარეშე (იხილეთ ცხრილი 16).

ცხრილი 16

Cl.perfringens-ის კულტურების შემოწმება ვირულენტობაზე, რომლებიც მრავალჯერად იყვნენ პასირებულნი სტრეპტომიცინიან ბულიონში

კულტურა	კულტურის დოზა DLM	თეთრი თაგვების რაოდ.	შეყვანის ხერხი	გადარჩა	მოკვდა
Cl. perfringens A28 B(LD–1) D213	 0,5 0,5 0,5	 12 12 12	კანქვეშ	 – – 12	 12–24 საათში 14–18 საათში 8 მოკვდა 15–24 საათის განმავ-ლობაში

ცხრილი 16-დან ჩანს, რომ 6-ჯერადი პასირება თხიერ ნიადაგზე სტრეპტომიცინით არ არის საკმარისი იმისათვის, რომ Cl.perfringens-ის კულტურები დასუსტდნენ ან დაკარგონ ვირულენტობა.

ადაპტაციის ცდებში, ზრდის შეჩერებისას შედარებით საწყის კულტურებთან ადგილი არ ჰქონია სტრეპტომიცინის კონცენტრაციამდე

24000 ერთ/მლ. ამ კონცენტრაციის ფარგლებში ლაგ-ფაზა გრძელდებოდა 28–30 საათი. ზემოთ ნაჩვენები კონცენტრაციით კულტურის ზრდა შეიმჩნეოდა 36–48–72 საათის შემდეგ.

ბულიონის კულტურები სამივე შტამის (Cl.perfringens A28, B(LD–1), D213), რომლებიც ადაპტირებულნი იყვნენ 26000 ერთ/მლ სტრეპტომიცინის, იძლეოდნენ ზრდას 24 საათში. მყარ ნიადაგზე კოლონიები იყო უფრო მცირე ზომის, ვიდრე საწყისი კულტურების, ჰემოლიზიც ნაკლებ გამჭვირვალე. D213 შტამის კოლონიები იყო ხეშეში, დაკბილული ბოლოებით, შტამების A28 და B(LD–1) ხეშეში ზედაპირი ნაკლებად შეემჩნეოდათ, ასევე დაკბილული ბოლოები. ცალკეული კოლონიები გადაგვქონდა ბულიონში (ჩვენი) ანაერობებისათვის, გადავთესავდით კიდევ 2-ჯერ სტრეპტომიცინის გარეშე და შემდეგ 18–20-საათიანი კულტურებით ვასნებოვნებდით თეთრ თაგვებს. ყველა შტამი სტრეპტომიცინის ასეთი კონცენტრაციით აღმოჩნდა ავირულენტურები, 0,5 მლ კულტურის შეყვანისას კანქვეშ; ყველა დასენიანებული ცხოველები გადარჩნენ. თითოეული შტამისათვის ვიყვანდით 20 თეთრ თაგვს – 14 საცდელი, 6 – საკონტროლო. ყველა საკონტროლო თაგვი დაიღუპა 14–20 საათში (იხ. ცხრილი 17). მეთვალყურეობა თაგვებზე იყო 14 დღე.

ცხრილი 17

თეთრი თაგვები, რომლებიც იყვნენ დასენიანებული კულტურებით, ადაპტირებულნი 26000 ერთ/მლ სტრეპტომიცინისადმი

კულტურა	თეთრი თაგვების რაოდ.	კულტურის დოზა	შეყვანის ხერხი	გადარჩა	მოკვდა
Cl. perfringens A28 ადაპტირებული 26000 ერთ/მლ	14	0,5	კანქვეშ	14	–
B(LD–1) ადაპტირებული 26000 ერთ/მლ	14	0,5		14	–
D213 ადაპტირებული 26000 ერთ/მლ	14	0,5		14	–

ცხრილი 17-დან ჩანს, რომ მრავალჯერადი ხანგრძლივი პასაჟისას საკვებ ნიადაგზე სტრეპტომიცინით, შეიძლება მივაღწიოთ კულტურის სტაბილურ დასუსტებას, რომელიც არ იწვევს დასენიანებული ცხოველების დახოცვას.

Cl. perfringens A28 შტამის ადაპტირება გაგრძელდა და მიყვანილ იქნა 28000 ერთ/მლ, რომლის მიღმა უკვე ზრდა არ შეიმჩნეოდა, ხოლო Cl. perfringens-ის D213 და B(LD–1) ადაპტირება გავაგრძელეთ სტრეპტომიცინის კონცენტრაციით 34000 ერთ/მლ, 36000 ერთ/მლ, 38000 ერთ/მლ და 40000 ერთ/მლ.

თითოეული აღნიშნული კონცენტრაციის პირობებში ზრდა იყო, მაგრამ 48–72 საათის შემდეგ. 40000 ერთ/მლ სტრეპტომიცინის კონცენტრაციისას, თხიერ ნიადაგზე Cl. perfringens D213 და B(LD–1) არ იზრდებოდნენ. მყარ ნიადაგზე გადათესვისას, რომელიც შეიცავდა სტრეპტომიცინს 40000 ერთ/მლ, აღინიშნებოდა ერთეული კოლონიების ზრდა, ხოლო 50000 ერთ/მლ კონცენტრაციისას არც ერთი კოლონია არ გაიზარდა.

შემდეგში ჩვენ შევამოწმეთ სიცოცხლის შენარჩუნების დრო სტრეპტომიციან არეში Cl. perfringens-ის B(LD–1) და D213. B(LD–1)-თვის ეს დრო გაგრძელდა 9 დღემდე, D213-ისთვის – 12 დღე. სტრეპტომიცინის შედარებით დაბალი კონცენტრაციისას ეს დრო გრძელდებოდა 20 დღემდე, ამიტომ ადაპტირებადი კულტურები ინახებოდა ჩვენს ბულიონში სტრეპტომიცინის გარეშე და 2,5–3 თვის დაკვირვების შემდეგ მათი გამძლეობა არ სუსტდებოდა.

საინტერესო იყო შეგვემოწმებინა, როგორი იქნებოდა კულტურის თვისებები, თუ მათ დავთესავდით მყარ ნიადაგზე სტრეპტომიცინის მაღალი კონცენტრაციით, ამისათვის Cl. perfringens D213 და D218 დავთესეთ 30 ფინჯანზე გლუკოზიან-სისხლიანი აგარით სტრეპტომიცინის კონცენტრაციით 3000 ერთ/მლ. 18-საათიანი კულტურები (საწყისი) ბულიონიდან ჩავთესეთ პეტრის ფინჯნებში 0,25 მლ მოცულობით, მიკრობული სხეული შემცველობით $2 \cdot 10^9$. ნათესების ინკუბირებას ვახდენდით ანაეროსტატში 37^0C-ზე 24 საათის განმავლობაში. 15 ფინჯანში გაიზარდა 5 კოლონია D213 და 7 კოლონია D218. ამდენივე პეტრის ფინჯანზე, კოლონიებს ჰქონდა დამახასიათებელი ფორმა – გლუვი ზედაპირი, სწორი კიდეებით, მწვანე ფერი ჰაერთან შეხებისას, გამოხატული ჰემოლიზით. მიკროსკოპირებისას ჩანდა დამახასიათებელი ფორმის გრამდადებითი ჩხირები.

კოლონიები გადავთესეთ ჩვენს ბულიონში ანაერობებისათვის სტრეპტომიცინის გარეშე და 18-საათიანი ზრდის შემდეგ გადავიტანეთ იმავე ბულიონში, სადაც სტრეპტომიცინი იყო 10000 ერთ/მლ, 15000 ერთ/მლ, 20000 ერთ/მლ და 25000 ერთ/მლ.

საკვებ არეში, პირველი სამი სტრეპტომიცინის კონცენტრაციით კულტურის ზრდის მიხედვით დამახასიათებელი იყო Cl. perfringens-თვის, ლაგ-ფაზა არ ჭარბობდა 5–6 საათს, 25000 ერთ/მლ ზრდა იყო შედარებით სუსტი.

მიღებული კულტურები პასირებული იქნენ კიდევ უფრო მაღალ კონცენტრაციაზე და 3 პასაჟის შემდეგ იზრდებოდნენ უკვე 30000ერთ/მლ ანტიბიოტიკის კონცენტრაციით. ამ კულტურებით ორჯერ პასირების შემდეგ ბულიონში (ჩვენი) სტრეპტომიცინის გარეშე, დავასენიანეთ თეთრი თაგვები და ვირულენტობის სიძლიერეში საწყის კულტურებთან შედარებით სხვაობა არ იყო.

მაშასადამე, ეს მაღალი მდგრადობის მქონე ვარიანტები (მუტანტები) მიღებული იყო ანტიბიოტიკის ერთჯერადი მოქმედებით მყარ ნიადაგზე და ვირულენტობით არ გამოირჩეოდნენ საწყისი კულტურებისაგან. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ ანტიბიოტიკის მიმართ მაღალი მდგრადობა ყოველთვის არ იწვევს ვირულენტობის შესუსტებას, და, ჩვენი დაკვირვებით, კულტურის დასასუსტებლად ანტიბიოტიკის საშუალებით გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს კულტურის პასირებას ხანგრძლივი დროის მანძილზე და ჯერადობას საკვებ არეში ანტიბიოტიკის განსაზღვრული კონცენტრაციით.

გ) დაბალი ტემპერატურის გავლენა Cl.perfringens-ის თვისებებზე

ამისათვის ავიღეთ Cl. perfringens-ის 5 შტამი A28, B(LD–1), D213, D218, D91. აღნიშნული შტამები გავზარდეთ ჩვენს ბულიონში 37^0C-ზე 18–20 საათი, pH–7,4, მიკრობული სხეულის კონცენტრაციით $4–6·10^9$/მლ. მიკრობული უჯრედებს ორჯერ ვრეცხავდით NaCl-ის ხსნარით ცენტრიფუგირებით 3000 ბრ/წთ 15 წუთი. ნალექი შეგვქონდა ხსნარში, რომლის შემცველობა იყო: 0,15 M ნატრიუმის ციტრატი და 0,1 M ЭДТА, pH–8,0.

სუსპენზიას ფლაკონებში 25 მლ მოცულობით ვდგამდით მაცივარში –3, $–4^0$C-ზე 6 თვით. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ სუსპენდ-

ზიას ვალღობდით და გადავთესავდით ჩვენს ბულიონში ანაერობებისათვის (pH– 7,4). გაიზარდა Cl. perfringens-ის შტამები B(LD–1), D213 და D91, ლაგ-ფაზის ხანგრძლივობა 8–10 საათი. არ გაიზარდა შტამი A28 და D218.

გაზრდილი კულტურები კიდევ ორჯერ გადავთესეთ ბულიონში და 12-საათიანი ნაზარდით დავასენიანეთ თეთრი თაგვები დოზით 0,5 მლ. საკონტროლოდ გამოვიყენეთ საწყისი კულტურები გაყინვის გარეშე.

ყველა საცდელი თაგვი, რომლებიც დავასნებოვნეთ გაყინული კულტურებით, დარჩნენ ცოცხლები, ხოლო თაგვები, რომლებიც დავასნებოვნეთ საწყისი კულტურებით – დაიხოცნენ 12–18 საათში. გაყინული კულტურები როდესაც გადავთესეთ გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე, მათი ვირულენტობა მთლიანად აღსდგა. ასე, მაგალითად, თეთრი თაგვები ამ კულტურებით დასენიანებულები იხოცებოდნენ საკონტროლოსთან ერთად 14–20 საათის გამავლობაში. მორფოლოგია, კულტურალური და ბიოქიმიური თვისებები იყო უცვლელი.

Cl. perfringens-ის შტამები A28 და D218 გავყინეთ ხელმეორედ –3–4^{0}C-ზე ორი თვით. გალღობის შემდეგ სუსპენზიას ვთესავდით ჩვენს ბულიონში. ზრდა შეიმჩნეოდა 12 საათის შემდეგ. კულტურების კიდევ ორჯერად პასირება ბულიონში და თეთრი თაგვების დასენიანება არ იწვევდა მათ დახოცვას, მაგრამ დასუსტებული ვირულენტობის აღდგენა ხდებოდა სისხლიან-გლუკოზიან აგარზე მათი პასირებისას.

ცდის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ Cl. perfringens-ის შტამები არ კარგავენ სიცოცხლისუნარიანობას და ინარჩუნებენ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებებს დაბალ ტემპერატურაზე მათი შენახვისას. ეს, ჩვენი აზრით, დამოკიდებულია იმაზე, რომ 18–20-საათიანი კულტურები მომზადებულნი არიან სპორას წარმოქმნისათვის და მათი ნელ ტემპში გაყინვისას ტემპერატურული რეჟიმით –3–4^0-ით ასწრებენ სპორას წარმოქმნას. ვინაიდან ზემოთ ნაჩვენებ ცდაში გამოყენეული იყო Cl. perfringens-ის

18–20-საათიანი კულტურები, გარკვეულ ინტერესს წარმოადგენდა შეგვესწავლა ლოგარითმულ ფაზაში მზარდი კულტურა უფრო დაბალ ტემპერატურაზე. ამისათვის Cl. perfringens-ის შტამი D213, D218, D91 18^0-იანი ნაზარდი ჩვენს ბულიონში გადაგვქონდა ხსნარში, რომელსაც ემატებოდა $(NH_4)_2SO_4$ – 2 გ, KH_2PO_4 – 6 გ, K_2HPO_4 – 14 გ, Na-ის ციტ-რატი – 1 გ, $MgSO_4$ – 0,1 გ, გლუკოზა – 0,5%; ნიადაგს ვანაწილებდით სინჯარებში, თითოეულში – 9 მლ, რომელსაც ზედაპირზე დასხმული ჰქონდა ვაზელინის ზეთი, pH – 7,4. ამ ნიადაგში კულტურის ინკუბირე-ბას ვახდენდით 4 სთ; ფაქტიურად კულტურა ინტენსიურად იზრდებოდა 1 სთ. ყველა 3 შტამის კულტურა Cl. perfringens-ი D ტიპისა 213, 218, 91 ვასხამდით თითო მლ-ის რაოდენობით სინჯარაში, ვყინავდით –70^0-ზე და შემდეგ ვათავსებდით მაცივრის საყინულეში 6–7 დღე-ღამის განმავლობაში. ამგვარად გაყინულ კულტურებს ვალღობდით 37^0C-ზე, გადავთესავდით გლუკოზიან-სისხლიან აგარში და ნათესების ინკუბი-რებას ვახდენდით 24 საათით ანაეროსტატში 37^0C-ზე. ფინჯნების გან-ხილვისას აღვნიშნეთ, რომ სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდე-ნობამ მკვეთრად იკლო შედარებით კონტროლთან, სადაც საწყისი კულტურები იყო განთესილი.

საცდელ ფინჯნებზე გაიზარდა R-ფორმის კოლონიები – დანაოჭე-ბული, ხეშეში, დაკბილული ბოლოებით. საკონტროლო ფინჯნებზე გაიზარდა S-ფორმის კოლონიები – გლუვი, ამობურცული, სწორი კიდეებით. ჰემოლიზი კარგად იყო გამოხატული როგორც საცდელ, ისე საკონტროლო კოლონიებში. ამოვთესავდით ცალკეულ კოლონიებს როგორც საცდელი, ისე საკონტროლო ფინჯნებიდან და ბულიონში 18-საათიანი კულტურებით ვასნებოვნებდით თეთრ თაგვებს. თაგვები, რომლებიც დასენიანებული იყვნენ გაყინული კულტურებით, დარჩნენ ცოცხლები, ხოლო საწყისი კულტურებით დასენიანებულები დაიხოც-ნენ 11–24 სთ-ში. შემდეგი პასაჟებით როგორც ბულიონში, ასევე

გლუკოზიან-სისხლიან აგარში არ აღადგენდნენ დაკარგულ ვირულენ-ტობას. შემდეგში ჩვენ შევამოწმეთ დაბალი ტემპერატურის მოქმედება მცირე ხნის მანძილზე, ანუ 20 წთ-იანი გაყინვა 4-საათიანი კულტუ-რების – Cl. perfringens-ის D213, D218, D71 –70^{0}C-ზე. გალღობის შემდეგ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე ეს კულტურები ითესებოდა გლუკოზიან-სისხ-ლიან აგარზე. გაზრდილი კოლონიები იყვნენ R-ფორმის. მათი ვირუ-ლენტობა იყო დაკარგული შედარებით საწყის კულტურებთან. შემ-დეგში პასირება ბულიონში და გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე არ იწვევდა რევერსირებას, ანუ დაბრუნებას საწყის მდგომარეობაში, ვირულენტობა არ აღდგებოდა. უფრო დამაჯერებერლი შედეგები იქნა მიღებული კულტურის გადათესვისას გაყინული მდგომარეობიდან გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე, რომელიც შეიცავდა სტრეპტომიცინს 800 ერთ/მლ. ამ მიზნით გამოვიყენეთ 3 შტამი Cl. perfringens-ისა – D213, D218, D91. ვახდენდით მათ ინკუბირებას 4 სთ-ის განმავლობაში, თითო მილილიტრის რაოდენობით სინჯარებში და ვყინავდით –70^{0}C-ზე 20 წუ-თის განმავლობაში. გალღობის შემდეგ 0,1 მლ კულტურა გადაგვქონდა გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე, რომელშიც შეტანილი იყო 800 ერთ/მლ სტრეპტომიცინი. ასეთი კონცენტრაციის პირობებში ნათესებიდან პეტრის ფინჯანზე 24–36 საათის ინკუბაციის შემდეგ იზრდებოდა 20–30 კოლონია. ყველა გაზრდილი კოლონია საცდელ ფინჯნებზე იყო ბრტყელი, ხეშეში ზედაპირით, დანაოჭებული, დაკბილული ბოლოებით, კარგად გამოხატული ჰემოლიზით. საკონტროლო ფინჯნებზე, სადაც დათესილი იყო კულტურები გაყინვის გარეშე, R-ფორმის კოლონიები არ გვხვდებოდა, მაგრამ იყო არცთუ დიდი რაოდენობით კოლონიები გარდამავალი ფორმის S→R. გადაგვქონდა ცალკეული კოლონიები როგორც საცდელი, ასევე საკონტროლო ფინჯნებიდან ბულიონში ანაერობებისათვის (ჩვენი) და გაზრდილი კულტურების კიდევ რამოდე-ნიმეჯერ პასირება ხდებოდა ამავე ნიადაგზე, ხოლო შემდეგ 12-საა-

თიანი კულტურებით ვასნებოვნებდით თეთრ თაგვებს კანქვეშ ზურგის არეში დოზით 0,5 მლ. ყველა საცდელი თაგვები გადარჩნენ, ხოლო საკონტროლოები დაიხოცნენ.

საინტერესო იყო შეგვემოწმებინა თეთრ თაგვებზე ავირულენტური კულტურების იმუნოგენური თვისებები, რომელიც მივიღეთ კომბინირებული მოქმედებით დაბალი ტემპერატურითა და სტრეპტომიცინით. იმუნიზაციისათვის გამოვიყენეთ Cl. perfringens-ის D213-ის კულტურის 16-საათიანი ნაზარდი ბულიონში. საკონტროლო თაგვები აიცრა ფორმოლვაქცინით, რომელიც დამზადებული იყო საწყისი D213 შტამისაგან. ვაქცინაციას ვატარებდით ორჯერად შვიდდღიანი ინტერვალით 1 და 2 ვაქცინაციებს შორის.

21-ე დღეზე მეორე ვაქცინაციიდან ვახდენდით საკონტროლო დასენიანებას. ყველა თეთრი თაგვი, რომელიც აცრილი იყო ცოცხალი ავირულენტური კულტურით, დაიხოცა 36–48–72 საათის განმავლობაში.

14 თეთრი თაგვიდან, რომელიც ავცერით ფორმოლვაქცინით, მოკვდა 5. ყველა ეს თაგვები დაიხოცა 18–24 სთ-ის განმავლობაში (შედეგები იხ. ცხრილში 18).

როგორც ცხრილი 18-დან ჩანს, თეთრ თაგვებს, რომლებიც აცრილი იყვნენ ცოცხალი ავირულენტური კულტურით, სიკვდილის დრო გაუხანგრძლივდათ 72 საათამდე, მაშინ როდესაც საკონტროლო ცხოველები დაიხოცნენ 24 საათში. ამით დასტურდება ის, რომ იმუნიტეტის გამომუშავებაში კლოსტრიდიებში მთავარ როლს ასრულებს ტოქსინი, მაგრამ ტოქსინთან ერთად მონაწილეობს ბაქტერიული უჯრედიც.

ცხრილი 18

იმუნიტეტის დაძაბულობა თეთრ თაგვებში, რომლებიც აიცრა Cl. perfringens-ის სხვადასხვა ანტიგენებით

ცხოველთა ჯგუფები	თეთრი თაგვების რაოდ.	შეყვანის ხერხი	დოზა DLM	დაღუპვის დრო საათებში							შედეგი	
				24	48	76	96	120	144	172	გადარჩა	მოკვდა
თეთრი თაგვები, რომლებიც აიცრა ცოცხალი ავირულენ-ტური კულტურით D213	14	კანქვეშ	5	1	6	7	–	–	–	–	–	14
თეთრი თაგვები, რომლებიც აიცრა საწყისი კულტურის ფორმოლვაქცინით D213	14		5		1	4	–	–	–	–	9	5
კონტროლი აუცრელი თეთრი თაგვები	10		5	10	–	–	–	–	–	–	–	10

7. მიღებული შედეგების განხილვა

სხვადასხვა სახეობის მიკროორგანიზმების მოთხოვნილება საკვებ ნივთიერებებზე, განსაკუთრებით აზოტსა და ნახშირბადზე, განსხვავებულია და სპეციფიკური. მაგ.: ნახშირბადი წარმოადგენს უმნიშვნელოვანეს ელემენტს, როგორც ორგანული ნივთიერებების წარმომქმნელი. ნახშირბადის წყაროს მიხედვით მიკროორგანიზმები შეიძლება დავყოთ ორ ჯგუფად: ავტოტროფებად და ჰეტეროტროფებად. ავტოტროფულ მიკროორგანიზმებს შეუძლიათ ნახშირბადის ერთადერთ წყაროდ, ორგანული ნაერთების სინთეზისათვის, გამოიყენონ ნახშირორჟანგი და მისი მარილები.

ჰეტეროტროფულ მიკროორგანიზმებს ნახშირბადის წყაროდ სჭირდებათ ორგანული ნაერთები, რომლებსაც გარდაქმნიან და აშენებენ საკუთარი უჯრედის ორგანულ ნაერთებს.

უმრავლესი ჰეტეროტროფული მიკროორგანიზმები ცხოვრობენ ცხოველური და მცენარეული ორგანული ნაერთების დაშლის ხარჯზე, ისინი საპროფიტებია და მონაწილეობას იღებენ ორგანული ნაერთების მინერალიზაციის პროცესში, ორგანულ ნაერთებს გარდაქმნიან არაორგანულ ნაერთებად.

ზოგიერთი ჰეტეროტროფული ორგანიზმები პარაზიტებია, რომელთაც ცხოვრება შეუძლიათ სხვა ორგანიზმის ხარჯზე, ისინი იწვევენ დაავადებებს ადამიანში, ცხოველებში, მცენარეებში, ესენი პათოგენური მიკროორგანიზმებია.

ჟანგბადის მოხმარების მიხედვით შეიძლება დავასახელოთ მიკროორგანიზმების სამი ჯგუფი: 1) ობლიგატური აერობები, რომელთაც შეუძლიათ მიიღონ ენერგია მხოლოდ სუნთქვის საშუალებით და, მადენად, საჭიროებენ ჟანგბადს; 2) ობლიგატური ანაერობები, რომელთაც შეუძლიათ არსებობა მხოლოდ ჟანგბადის გარეშე; 3) ფაკულტატური

ანაერობები, რომლებიც არსებობენ და იზრდებიან როგორც ჟანგბადიან არეში, ისე უჟანგბადოში.

აზოტის წყაროდ, რომელიც აუცილებელია ცილის სინთეზისათვის, ნუკლეინის მჟავას და სხვა აზოტშემცველი ნაერთების შენებისათვის, წარმოადგენს ორგანული ნაერთების აზოტი, რომელსაც მოიხმარს მიკროორგანიზმი თავისი ფერმენტების დახმარებით.

საკვები ნიადაგი ასევე უნდა შეიცავდეს მაკრო- და მიკროელემენტებს, რომელთა მოხმარება უმნიშვნელოა, მაგრამ მათ გარეშე მიკროორგანიზმების ზრდა შეჩერებულია, ან შეიძლება დაიღუპონ კიდეც.

საკვები ნიადაგი უნდა შეიცავდეს აგრეთვე ვიტამინებს, ზოგიერთი მათგანი შედის ფერმენტების შემადგენლობაში. ზოგიერთი ვიტამინის არარსებობა საკვებ ნიადაგში მნიშვნელოვნად თრგუნავს მის ზრდა-განვითარებას, როგორიცაა ნიკოტინის მჟავა, თიამინი, რიბოფლავინი, ბიოტინი, პანტოტენის მჟავა და სხვ.

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა სხვადასხვა მიკროორგანიზმების როგორც ეტალონური შტამები, ასევე ცოცხალი ჯანმრთელი და იძულებით დაკლული ცხოველები.

ჩვენს მიერ შეთავაზებულ საკვებ ნიადაგზე მოვახდინეთ გარემო ფაქტორების შესწავლა – ტემპერატურის, გამოშრობის, ოსმოსური წნევის და ანტისეპტიკური, სადეზინფექციო ხსნარების მოქმედება ენტერობაქტერიებზე, სტაფილოკოკებსა და კლოსტრიდიებზე.

ჩვენს მიერ შეთავაზებულ საკვებ ნიადაგზე მოვახდინეთ გამოყოფილი და ეტალონური ანაერობული შტამების შეწყვილება ეშერიხიებთან, რა დროსაც დონორებად გვევლინებოდნენ კლოსტრიდიები, ხოლო რეციპიენტებად – ეშერიხიები.

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესასწავლად სერიული განზავებისა და დისკების მეთოდის გარდა, გამოვიყენეთ აგრეთვე სციბალსკისა და ბრიზონის მეთოდი. კოლონიებს, რომლებიც გაიზარდა იმ ზონაში,

სადაც ანტიბიოტიკის კონცენტრაცია იყო ყველაზე მაღალი, ამოვთე-სავდით არსებულ ნიადაგებში და ჩვენს ნიადაგში. შედეგი იყო ჩვენს ნიადაგში უკეთესი, ვიდრე არსებულში.

მარცვლოვნები, რომლისგანაც დამზადდა ჩვენი ნიადაგი, კერძოდ, სიმინდი, ხორბალი და სოიო, შეიცავს იმ აუცილებელ კომპონენტებს, რომელიც სჭირდება მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებას, თითო-ეული ცალკე აღებული კი ვერ უზრუნველუყოფს მათ მოთხოვნას ცილებზე, ცხიმებზე, ნახშირწყლებზე, მინერალურ ნივთიერებებზე, ვიტამინებზე. განსაკუთრებით საგრძნობია შეუცვლელი ამინომჟავების დეფიციტი სიმინდსა და ხორბალში, ხოლო სოიო ამ ამინომჟავებს შეიცავს საკმარისი რაოდენობით, მაშასადამე, ხდება საკვები ნიადაგის დაბალანსება შეუცვლადი ამინომჟავებით, ასევე უაზოტო ექსტრაქ-ტული ნივთიერებებით და მიკროელემენტებით – კობალტით, იოდით, თუთიით, მოლიბდენით; ვიტამინებით – რიბოფლავინით, პანტოტენის მჟავათი, ქოლინით. ე.ი. ჯამში ერთის დეფიციტი ივსება მეორეში არსე-ბულით და მიკროორგანიზმები ღებულობენ ყველა იმ საჭირო ნივთიე-რებას, რომელიც განაპირობებს საკმარისი ბიომასის დაგროვებას და იმ ძირითადი ბიოლოგიური თვისებების შენარჩუნებას (ანტიგენობა, ვირულენტობა, ტოქსიგენობა, ფერმენტაცია, კულტურალური თვისებები და სხვ.), რითაც ხასიათდება მიკრობის ესა თუ ის სახეობა.

სოიო შეუცვლადი ამონიმჟავების მაჩვენებლით დიდად აღემატება სიმინდისა და ხორბლის მაჩვენებლებს, მაგ. ლეიცინის, არგინინის, ლიზინის, იზოლეიცინის, ფენილალანინის, ტრეონინისა და ვალინის შემცველობა ბევრად აღემატება სიმინდისა და ხორბლის მაჩვენებლებს, ე.ი. დეფიციტი აღნიშნული ამინომჟავებისა სიმინდსა და ხორბალში ივსება სოიოში არსებულით.

ჩვენს მიერ შეთავაზებული იქნა მშრალი საკვები ნიადაგი, თხიერი საკვები ნიადაგი და მყარი საკვები ნიადაგი აერობული და ანაერო-

ბული მიკროორგანიზმებისათვის. მშრალ საკვებ ნიადაგს აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის იმ ქიმიური შემადგენლობით, რომელიც აღწერილია დისერტაციაში, ემატება NaCl 0,7%, აგარი – 2 ან 3% იმისდა მიხედვით, რა დანიშნულებითაა, მაგ.: სისხლიან-გლუკოზიანი აგარი ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის – 3%, ჩვეულებრივი მყარი ნიადაგისათვის – 2%, მთლიანობაში ბიოლოგიური საწყისის ტიტრი საკვებ არეში არის 88%, pH 7,2–7,6. საკვებ ნიადაგზე უხვად იზრდებიან აერობები: ეშერიხიები, სალმონელები, პროტეუსი, ფსევდომონადები, ერსინიები, პასტერელები, ლისტერიები, ერიზიპელოტრიქსები, ჯილეხის აღმძვრელი, სტაფილოკოკები, სტრეპტოკოკები და სხვ. აერობული მიკროორგანიზმები. 15% ცხვრის სისხლისა და 2% გლუკოზის დამატებისას ოპტიმალურია კლოსტრიდიების Cl. perfringens-ის, Cl. septicum-ის, Cl. oedematiens-ის, Cl. chauvoei-ის, Cl. soircelli-ის, Cl. tetan-ის, Cl. botulinum-ის კულტივირებისათვის. საკვები არე საბოლოო სახეს ღებულობს სიმინდის, ხორბლის, სოიოს ფქვილის, აგარის და NaCl-ის შერევით, ისე რომ თითოეული ინგრედიენტი თანაბრად განაწილდეს ნარევში.

საკვებ არეში შემავალი კომპონენტები თავისი ქიმიური შედგენილობით სრულად აკმაყოფილებენ მიკროორგანიზმების მოთხოვნებს: 1) სრულფასოვანი ცილა (პროტეინი) – არის პლასტიკური საშენი მასალა გახარჯული უჯრედოვანი ელემენტების შესაცვლელად, ამავე დროს ენერგიის წყარო, რომელიც ზრდა-განვითარების სტიმულს აძლევს მიკრობულ უჯრედს; 2) ნახშირწყლები – მიკრობული უჯრედის მიერ მოხმარებული შაქრების რაოდენობა, რომელიც არის საკვებ ნიადაგში და განაპირობებს ზრდას და გამრავლებას; 3) ცხიმები – ენერგიის წყარო, რომელიც სჭირდება მიკროორგანიზმს ზრდის პროცესში. უაზოტო ექსტრაქტული ნივთიერებები, მაკროელემენტები, მიკროელემენტები, ვიტამინები – ეს ის ნივთიერებებია, რომლებიც

აუცილებელია მიკრობული უჯრედის ნორმალური განვითარებისათვის. ისინი შედიან მიკრობის მიერ პროდუცირებული ფერმენტების შემადგენლობაში და შლიან ცილებს, ნახშირწყლებს, ცხიმებს.

კულტივირების პროცესში დროის ხანგრძლივობა ახალ საკვებ ნიადაგზე დამოკიდებულია მიკრობის სახეობაზე და არის შესაბამისობაში ამა თუ იმ სახეობის ზრდის მაჩვენებელთან გამოყენებულ საკვებ არეებზე.

მიკრობული უჯრედის მიმართ საკვებ არეს ლეტალური მოქმედება არ გააჩნია, ხოლო დროის მონაკვეთში გაცილებით ეფექტურია ბიომასის დაგროვების თვალსაზრისით, ვიდრე არსებული საკვები ნიადაგები. ნიადაგი აბსოლუტურად უვნებელია ადამიანისათვის, შინაური ცხოველებისა და ფრინველებისათვის, ვინაიდან წარმოადგენს ძვირფას საკვებ პროდუქტს; მცირედ ხსნადია, აქროლადობა პრაქტიკულად არ ახასიათებს, ხარშვისას არ კარგავს ბაქტერიების ზრდისათვის ოპტიმალურ თვისებებს.

ძვირად ღირებული საკვები ნიადაგის შეცვლა შედარებით იაფით, რომელიც უზრუნველყოფს იმავე რაოდენობის ბიომასის დაგროვებას, არ ნიშნავს, რომ შენარჩუნებულია ძირითადი ბიოლოგიური თვისებები – პათოგენობა და ანტიგენობა, აუცილებელი პირობა კი მათი საწყის დონეზე მაინც არსებობის უზრუნელყოფაა. აერობული მიკროორგანიზმების კულტივირება ისეთ იაფ სუბსტრატზე, როგორიცაა სოიოს, ხორბლის და სიმინდის ნახარში, თანაც ძალზე მომთხოვნი მიკროფლორისათვის – სტრეპტოკოკების, ბრუცელების, პასტერელების, ძალზე საყურადღებოა, შესწავლილია სხვა სახეობის მიკროორგანიზმებიც – სალმონელები, ეშერიხიები, სტაფილოკოკები. ე.ი. მთელი სპექტრი იმ მიკროორგანიზმებისა, რომლებიც ძალზე ხშირად არიან მიზეზი შესაბამისი ინფექციური დაავადებების აღმოცენებისა არა მარტო ცხოველებში, არამედ ადამიანებშიც. ყველა ჩამოთვლილი

მიკრობთა სახეობები შესწავლილი იქნა მათი ბიოლოგიური თვისებების მიხედვით, არსებულ ფართოდ გამოყენებულ საკვებ ნიადაგებზე და შედარებულ იქნა შეთავაზებულ საკვებ არეებთან – თხიერ და მყართან. ვინაიდან მიკრობთა კულტივირებისათვის პირველხარისხოვანი მნიშვნელობა ცილების შემცველობას აქვს, განისაზღვრა საერთო აზოტი, ამინური აზოტი, ტრიფტოფანი. საერთო აზოტის შემცველობა თუ ხორცის ბულიონში შეადგენს 250–300 მგ%, მცენარეული სუბსტრატის ნახარშში – 230–300 მგ%-ია, ე.ი. რაოდენობა იგივეა და სრულად აკმაყოფილებს მიკრობთა მოთხოვნას საერთო აზოტზე.

ამინური აზოტის შემთხვევაში ხორციან ბულიონში ამინომჟავების რაოდენობა, საერთოსთან შედარებით, 20–30%-ია, მარცვლეულის ნახარშში იგივე მდგომარეობაა, იმ განსხვავებით, რომ გათვალისწინებულია თითოეული კომპონენტის ამინომჟავური შედგენილობა, სადაც მთავარია ერთში დეფიციტის შევსება მეორეში არსებულით, ასე მაგალითად, საერთო ცილა, ამინური აზოტი და ტრიფტოფანი სიმინდსა და ხორბალში შედარებით მცირე რაოდენობითაა და მკვეთრად ჩამოუვარდება სოიოში არსებულს, ექსტრაქტში კი ისინი ერთმანეთს ავსებენ, ამგვარად, ხდება დაბალანსება ყველა შეუცვლადი ამინომჟავებით, რაც უზრუნველყოფს აღნიშნული მიკრობული სახეობების ძალზე კარგ ზრდას, მიუხედავად იმისა, მასში არ შედის ცხოველური წარმოშობის დანამატი, ამგვარად, ამინური აზოტი შეადგენს 120–140 მგ%, ხოლო ტრიპტოფანი – 3,8 მგ%, რაც სუბსტრატში ცილების მაღალ შემცველობაზე მეტყველებს და იმ ნივთიერებების საკმარის დონეზე პროდუცირებას, რომლებიც განაპირობებენ სტაფილოკოკებში, სტრეპტოკოკებში, ეშერიხიებში – ტოქსიგენობას, სალმონელებში – ვირულენტობას ენდოტოქსინის დონეზე, ეშერიხიებში – კოლიცინების სინთეზს და სხვ., ე.ი. ყველა ამ მნიშვნელოვანი თვისების რეალიზებას მიკრობულ

უჯრედში განაპირობებს სწორედ ცილების ოპტიმალური რაოდენობა, შეუცვლადი ამინომჟავებით უზრუნველყოფა.

ინფექციურ პათოლოგიაში, როდესაც საქმე გვაქვს ახლად მიღებულ იზოლატებთან, რომელთაც უნდა შეუნარჩუნდეთ ძირითადი ბიოლოგიური თვისებები – პათოგენობა და ანტიგენობა, უპირველესი მნიშვნელობა ენიჭება საკვები ნიადაგის სრულფასოვნებას, რაც, ჩვენი აზრით, მიღწეულია სტაფილოკოკების, სტრეპტოკოკების, ფსევდომონადების, ციმბირული წყლულის, ანაერობების რეფერენტული შტამების კულტივირებისას; ყველა გამოყენებული შტამი ინარჩუნებდა თავის საწყის მდგომარეობას და ხორცის ნიადაგზე გაზრდილ კულტურებთან შედარებისას სხვაობა არ შეინიშნებოდა – პათოგენური თვისებების მქონე კულტურა რჩებოდა იმავე თვისებების მატარებელი, იგივე ეხება ბიოლოგიურ თვისებებსაც, ის შაქრები, რომლებიც ჩვეულებრივ ნიადაგზე განიცდიდა დაშლას, იშლებოდა საცდელ ნიადაგზე გაზრდილი კულტურითაც.

განსაკუთრებულ აღნიშვნას საჭიროებს E.coli M17 შტამი, რომელიც გამოიყენება პრობიოტიკების – კოლიბაქტერინის და რომაკოლის დასამზადებლად. აღნიშნული შტამის მოქმედი საწყისი ძლიერი ანტაგონისტური თვისების მქონე ნივთიერება – კოლიცინია, რომელიც თრგუნავს ზრდას არა მარტო სახეობის შიგნით მყოფი ინდივიდების, არამედ სხვა გვარის მიკროფლორისაც – სტაფილოკოკების, კლოსტრიდიების და ა.შ.

ამდენად, მეტად საინტერესო იყო, თუ რამდენად შეინარჩუნებდა აღნიშნული შტამი ამ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებას, წინააღმდეგ შემთხვევაში მისი გამოყენება პროფილაქტიკური და სამკურნალო დანიშნულების პრეპარატების დასამზადებლად შეუძლებელი გახდებოდა. შემოთავაზებულ ნიადაგზე აღნიშნული შტამი E. coli M17 ხასიათდებოდა ბიომასის საკმარისი რაოდენობით დაგროვებით და კოლი-

ცინოგენური თვისებების სრულად შენარჩუნებით იმ დროში, რომელიც პრეპარატის დამზადების რეჟიმითაა გათვალისწინებული (იხ. ცხრილი 4).

ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირება საკმაოდ რთულია, ვინაიდან მომთხოვნი არიან საკვები ნიადაგებისადმი. საკვები არე მდიდარი უნდა იყოს სრულფასოვანი ცილებითა და ნახშირწყლებით, წინააღმდეგ შემთხვევაში, ზრდა სრულყოფილი არ იქნება ან არ წარიმართება. თუ თხიერ ნიადაგს ავიღებთ, აუცილებელია ღვიძლის ნახარშზე ღვიძლის ნაჭრების შეტანა, ან მყარი ნიადაგის მომზადებისას ხორც-პეპტონიან აგარში სისხლის და გლუკოზის დამატება. არის სხვა ვარიანტებიც, მაგრამ ყველა საჭიროებს სრულფასოვან ცილებსა და ნახშირწყლებს. გასაგებია, რომ ოპტიმალური ნიადაგის დამზადება ძვირად ღირებულ კომპონენტებთანაა დაკავშირებული.

ამასთან დაკავშირებით, გამოიცადა საკვები ნიადაგის რამდენიმე ვარიანტი, რომლებიც მხოლოდ მცენარეულ სუბსტრატს შეიცავდა, მათგან შევჩერდით სოიოს, ხორბლისა და სიმინდის ექსტრაქტზე, რომელშიც გათვალისწინებული იყო ამინომჟავური შემცველობა – ერთის დეფიციტი კომპენსირდებოდა მეორის სრულფასოვანი შემადგენლობით, ასე მაგალითად, ხორბალსა და სიმინდში შეუცვლადი ამინომჟავები – ტრიფტოფანი, ლეიცინი, ლიზინი და სხვათა დეფიციტი შეივსებოდა სოიოში არსებულით, სადაც ეს ამინომჟავები საკმარისი რაოდენობითაა, ხოლო რაც შეეხება ნახშირწყლებს, ისინი ხორბალსა და სიმინდში სრულად არიან წარმოდგენილნი და აკმაყოფილებენ ანაერობების მოთხოვნებს ამ ნივთიერებებზე. მაშასადამე, მზადდებოდა სოიოს, ხორბლისა და სიმინდის ექსტრაქტი, ემატებოდა მას სუფრის მარილი – NaCl 0,5–0,7%-ის რაოდენობით, pH 7,4–7,6-ის ფარგლებში; ვასხამდით სინჯარებში მაღალი სვეტით, ფსკერზე ვათავსებდით სოიოს კაკლებს 3–4 ცალის რაოდენობით, ხოლო ზედაპირზე,

ატმოსფეროს ჰაერისაგან ვიცავდით ვაზელინის ზეთის თხელი ფენით. კულტურის ჩათესვის წინ ვახდენდით დუღილით რეგენერაციას 15 წუთით.

მყარი ნიადაგის დასამზადებლად სამივე მარცვლეულის ექსტრაქტს ვუმატებდით 3% აგარ-აგარს, 15% – სისხლს, 2% – გლუკოზას და NaCl – 0,5–0,7%, pH 7,4–7,6. ამგვარად დამზადებულ მყარ ნიადაგს ჩამოვასხამდით პეტრის ფინჯნებში 18–20 მლ-ის რაოდენობით.

ცდაში გამოვიყენეთ ანაერობების კულტურები: Cl. perfringens A28, B216, D213, D219; Cl. septicum A59, A113; Cl. oedematiens A79; Cl. chauvoei B1, B16. აღნიშნულ კულტურებს ვთესავდით ჩვენს ნიადაგში, შესადარებლად იგივე კულტურებს ვთესავდით კიტ-ტაროცის ბულიონში. კულტივირებას ვახდენდით 24–28 სთ-ის გამავლობაში 27^0C-ზე. ანაერობების ყველა კულტურა ჩვენს ნიადაგზე უხვ ზრდას იძლეოდა და აირსაც ენერგიულად გამოყოფდა. იგივე კულტურები მყარ საკვებ ნიადაგზე იზრდებოდნენ მათთვის დამახასიათებელი კოლონიების ფორმით.

გასაგებია, რომ ყველა ეს თვისება – ბიომასის საკარისი რაოდენობით დაგროვება, კოლონიების ფორმა, ჰემოლიზი და სხვა, საცდელ ნიადაგზე იგივეა, როგორც საკონტროლოზე, მაგრამ ეს არ არის საკმარისი, რომ ნიადაგის სრულფასოვნებაზე დასკვნა გავაკეთოთ, საჭიროა ნიადაგზე კულტურამ საკმარისი რაოდენობით დააგროვოს ტოქსინი. დაყენებულ ბიოცდაში საცდელ ნიადაგზე გაზრდილი კულტურები საცდელთან ერთად თანაბრად ხოცავდნენ თეთრ თაგვებს.

აღმოჩნდა, რომ საცდელ ნიადაგზე წარმატებით შეიძლება ჩატარდეს ბაქტერიებს შორის შეწყვილების ცდები, ანუ კონიუგაცია. კონიუგაციის დროს ხდება ინფორმაციის ცალმხრივი გადაცემა – დონორიდან რეციპიენტზე, რა დროსაც გადაეცემა დონორისათვის დამახასიათებელი თვისებები, როგორიცაა ტოქსიგენობა, ანტიგენობა, ჰემოლიზური აქტივობა, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა და სხვა.

აღნიშნული ცდები კლოსტრიდიებსა და ეშერიხიებს შორის, კლოსტრიდიებსა და სტაფილოკოკებს შორის ჩაატარა ჯ. ნაჭყებიამ და ჩვენ სხვა შტამებზე გავიმეორეთ იგივე ცდები, ოღონდ საცდელ ნიადაგზე. დონორად ავიღეთ Cl. perfringens B216 და რეციპიენტად E. coli-ს M1 შტამი. აქვე გამოვიყენეთ რეციპიენტად ჰაერიდან მიღებული იზოლატები. Cl. perfringens გადასცემდა ტოქსიგენურ თვისებებს, ჰემოლიზურ აქტივობას, ანტიგენურ თვისებებს, რეზისტენტობას ანტიბიოტიკებისადმი და სხვა.

იგივე შედეგები მივიღეთ კლოსტრიდიების სტაფილოკოკებთან შეჯვარებისას.

შეწყვილების ცდების ჩატარების შემდეგ საინტერესო იყო მიღებული რეკომბინასნტების იმუნოგენური თვისებების შესწავლა, რისთვისაც ავიღეთ E. coli-ს M1 შტამი, რომელსაც გადავეცით ტოქსიგენური თვისებები ანაერობებიდან. იმუნური აქტივობის შესასწავლად ვიყენებდით ვაქცინებს როგორც მონოვალენტურს, ასევე პოლივალენტურს (მონოვაქცინებს ვაერთებდით თანაბარი მოცულობით). იმუნურ აქტივობას ვამოწმებდით აცრილი ცხოველების დასენიანებით დონორების კულტურებით. მონოვაქცინებს, რომლებიც დამზადებული იყო E. coli-ს M1 შტამის კლოსტრიდიალური რეკომბინანტებისაგან, გააჩნდათ იმუნოგენური თვისებები და იცავდნენ ცხოველებს დაღუპვისაგან დონორის საწყისი კულტურების დასენიანებისას, რაც, თავის მხრივ, წარმოადგენს მტკიცებას, რომ განხორციელდა პათოგენობის გადაცემა კლოსტრიდიებიდან ეშერიხიებზე.

ჩვენ ამავე დროს შევისწავლეთ კლოსტრიდიების იმუნური შრატის გავლენა მათ ჰომოლოგიურ კულტურებზე, კერძოდ, Cl. perfringens-ის A28 შტამის ჰომოლოგიური შრატი და პლუს ვირულენტური კულტურა A28 შტამის.

Cl. perfringens-ის A28 შტამი, რომელიც 18-ჯერ იყო პასირებული ჰომოლოგიურ შრატთან ერთად, ვირულენტობას არ კარგავდა, ე.ი. შრატის მოქმედება in vitro არ იყო საკმარისი კულტურის დასასუსტებლად.

ჩვენ ამავე დროს შევისწავლეთ სტრეპტომიცინის გავლენა Cl. perfringens-ის თვისებებზე, რისთვისაც გამოვიყენეთ ადაპტირების მეთოდი მუტაციების მიღების მიზნით. კულტურები, რომელიც ადაპტირებული იყვნენ 25000 ერთ/მლ და 30000 ერთ/მლ, ვირულენტობას არ კარგავდნენ, ეს ხდებოდა მრავალჯერადი პასირებით და სტრეპტომიცინის კონცენტრაციის თანდათანობითი გაზრდით. ეს კულტურები, რომლებიც თხიერ ნიადაგზე სტრეპტომიცინის ასეთ მაღალ კონცენტრაციას უძლებდნენ, მყარ საცდელ ნიადაგზე გადათესვისას ვირულენტობას არ კარგავდნენ.

მუტაციების მიღებისთვის კულტურის დასუსტების მიზნით ჩავატარეთ დაბალი ტემპერატურების ზემოქმედება. ცდის შედეგმა გვიჩვენა, რომ Cl. perfringens-ის შტამები არ კარგავენ სიცოცხლისუნარიანობას და ინარჩუნებენ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებებს დაბალ ტემპერატურაზე მათი შენახვისას. ეს, ჩვენის აზრით, დამოკიდებულია იმაზე, რომ 18–20-საათიანი კულტურები მომზადებულნი არიან სპორას წარმოქმნისათვის და მათი ნელ ტემპში გაყინვისას ტემპერატურული რეჟიმით –3–4^{0}C-ით ასწრებენ სპორას წარმოქმნას.

შემდეგი ცდა იყო Cl. perfringens-ის რამდენიმე შტამის შემოწმება –70^{0}C-ზე საცდელი ნიადაგის პირობებში. მყარ ნიადაგზე სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა მკვეთრად კლებულობდა კონტროლთან შედარებით, სადაც საწყისი კულტურები იყო განთესილი. საცდელ ფინჯნებზე გაიზარდა R-ფორმის კოლონიები – ხეშეში, დანაოჭებული, დაკბილული ბოლოებით. საკონტროლო ფინჯნებზე S-ფორმის კოლონიები – გლუვი, ამობურცული, სწორი კიდეებით. ჰემოლიზი კარგად

იყო გამოხატული როგორც საცდელ, ისე საკონტროლო კოლონიებში. რამდენჯერმე პასაჟისას გლუკოზიან-სისხლიან აგარში საცდელი კულტურები არ აღადგენდნენ დაკარგულ ვირულენტობას.

შემდეგში ჩვენ შევამოწმეთ დაბალი ტემპერატურის ერთდროული მოქმედება სტრეპტომიცინთან ერთად, რომ მყარი ყოფილიყო დაკარგული ვირულენტობის შენარჩუნება, ამისათვის გამოვიყენეთ Cl. perfringens-ის შტამები, ინკუბირებას ვახდენდით 4 სთ-ის განმავლობაში და თითო მლ-ის რაოდენობით სინჯარებში და ვყინავდით –70^{0}C-ზე 20 წუთის განმავლობაში. გალღობის შემდეგ 0,1 კულტურისა გადაგვქონდა გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე, რომელშიც შეტანილი იყო 800 ერთ/მლ სტრეპტომიცინი. ასეთი კონცენტრაციის პირობებში ნათესებიდან პეტრის ფინჯანზე 24–36 სთ-ის ინკუბაციის შემდეგ იზრდებოდა 20–30 კოლონია. ყველა გაზრდილი კოლონია საცდელ ფინჯნებზე იყო ბრტყელი, ხეშეში ზედაპირით, დანაოჭებული, დაკბილული ბოლოებით, კარგად გამოხატული ჰემოლიზით. საკონტროლო ფინჯნებში, სადაც დათესილი იყო კულტურები გაყინვის გარეშე, R-ფორმის კოლონიები არ გვხვდებოდა, მაგრამ იყო არცთუ დიდი რაოდენობით კოლონიები გარდამავალი ფორმის S→R. გადაგვქონდა ცალკეული კოლონიები როგორც საცდელი, ასევე საკონტროლო ფინჯნებიდან, ჩვენს ბულიონში ანაერობებისათვის. გაზრდილი კულტურების კიდევ რამდენიმეჯერ პასირება ხდებოდა ამავე ნიადაგზე, ხოლო შემდეგ 12-საათიანი კულტურებით ვასნებოვნებდით თეთრ თაგვებს კანქვეშ ზურგის არეში, დოზით 0,5 მლ. ყველა საცდელი თაგვები გადარჩნენ, ხოლო საკონტროლოები დაიხოცნენ.

შევამოწმეთ აგრეთვე ავირულენტური კულტურების იმუნოგენური თვისებები, რომელიც მივიღეთ დაბალი ტემპერატურისა და სტრეპტომიცინის კომბინირებული მოქმედებით. იმუნიზაციისათვის გამოვიყენეთ D213-ის კულტურის 16-საათიანი ნაზარდი ჩვენს ბულიონში. საკონ-

ტროლო თაგვები აიცრა ფორმოლვაქცინით, რომელიც დამზადებული იყო საწყისი D213 შტამისაგან. ვაქცინაციას ვატარებდით ორჯერად 7-დღიანი ინტერვალით 1 და 2 ვაქცინაციებს შორის.

21-ე დღეზე მეორე ვაქცინაციიდან ვახდენდით საკონტროლო დასენიანებას. ყველა თეთრი თაგვი, რომელიც აცრილი იყო ცოცხალი ავირულენტური კულტურით, დაიხოცა 36–48–72 სთ-ის განმავლობაში.

8. დასკვნები

1) მარცვლოვნები განსხვავებული ქიმიური შემადგენლობით ხასიათდებოდნენ, კერძოდ, სიმინდი, ხორბალი და სოიო, რომლებიც გამოყენებული იქნა საკვები ნიადაგების დასამზადებლად აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმებისათვის. ამ მარცვლოვნების ექსტრაქტი და ფქვილი შეიცავს იმ აუცილებელ კომპონენტებს, რომელიც სჭირდება მიკროორგანიზმების ზრდა-განვითარებას, თითოეული ცალკე აღებული კი ვერ აკმაყოფილებს მათ მოთხოვნას ცილებზე, ცხიმებზე, ნახშირწყლებზე, მინერალურ ნივთიერებებზე, ვიტამინებზე. განსაკუთრებით საგრძნობია შეუცვლადი ამინომჟავების დეფიციტი სიმინდსა და ხორბალში, ხოლო სოიო ამ ამინომჟავებს შეიცავს საკმარისი რაოდენობით, ხდება საკვები ნიადაგის დაბალანსება შეუცვლადი ამინომჟავებით, ასევე უაზოტო ექსტრაქტული ნივთიერებებით, მიკროელემენტებითა და ვიტამინებით, რაც განაპირობებს საკმარისი ბიომასის დაგროვებას და ძირითადი ბიოლოგიური თვისებების შენარჩუნებას – ანტიგენური თვისებების, ვირულენტობის, ტოქსიგენური თვისებების, ფერმენტატული თვისებების და სხვ.

2) მშრალი საკვები არე საბოლოო სახეს ღებულობს სიმინდის, ხორბლის, სოიოს ფქვილის, აგარის და NaCl-ის შერევით ისე, რომ თითოეული ინგრედიენტი თანაბრად განაწილდეს ნარევში, ფასოვდება მინის ქილებში ან ქაღალდის პაკეტებში 100 და 200 გ-ის ოდენობით, pH 7,2–7,6. გამოყენებისას 5 გ ნარევი უნდა გაიხსნას 100 მლ გამოხდილ წყალში და დუღილის დაწყებიდან იხარშოს 5–7 წთ, დაყოვნდეს, სანამ ტემპერატურა არ დაიწევს 55–60^{0}C-მდე, ჩამოისხას სინჯარებში, დაირიბებული აგარის ან პეტრის ფინჯნებში მყარი ნიადაგის მისაღებად.

3) ნიადაგი აბსოლუტურად უვნებელია ადამიანისათვის, შინაური ცხოველებისა და ფრინველებისათვის, ვინაიდან წარმოადგენს ძვირფას საკვებ პროდუქტს; მცირედ ხსნადია, აქტროლადობა პრაქტიკულად არ ახასიათებს, ხარშვისას არ კარგავს ბაქტერიების ზრდისათვის ოპტიმალურ თვისებებს.
4) საცდელ თხიერ ნიადაგზე გაზრდილი მიკროორგანიზმების ბიომასა არ ჩამოუვარდება ხორც-პეპტონიან ბულიონში გაზრდილ მიკრობთა რიცხვს და შეადგენს 10 მლრდ/მლ-ში 100 გ სუბსტრატიდან. ყველაზე უხვი ზრდა დაფიქსირდა ხოტინგერის ბულიონში, მას ოდნავ ჩამორჩებოდა საცდელი თხიერი არე და შედარებით დაბალი იყო ბიომასის დაგროვება ხორც-პეპტონიან ბულიონში.
5) ინფექციურ პათოლოგიაში, როდესაც საქმე გვაქვს ახლად მიღებულ იზოლატებთან, რომელთაც უნდა შეუნარჩუნდეთ ბიოლოგიური თვისებები – პათოგენობა და ანტიგენობა, უპირველესი მნიშვნელობა ენიჭება საკვები ნიადაგის სრულფასოვნებას, რაც, ჩვენის აზრით, მიღწეული და დადასტურებულია ცდებით ეშერიხიების, სალმონელების, სტრეპტოკოკების, ფსევდომონადების, ციმბირული წყლულის აღმძვრელის, ანაერობების რეფერენტული შტამების კულტივირებისას. ყველა შტამი ინარჩუნებდა თავის საწყის მდგომარეობას და ხორცის ნიადაგზე გაზრდილ კულტურებთან შედარებით სხვაობა არ შეინიშნებოდა.
6) სიმინდის, ხორბლის, სოიოს ექსტრაქტზე გაზრდილი E. coli-ს M17 შტამი, რომელიც გამოიყენება პრობიოტიკების – კოლიბაქტერინისა და რომაკოლის დასამზადებლად ინარჩუნებდა თავის ანტაგონისტურ თვისებებს, რაც მდგომარეობდა კოლიცინის სინთეზში. საცდელ ნიადაგზე მიკრობები ინარჩუნებდნენ ძირითად ბიოლოგიურ თვისებებს, ხოლო კოლიცინის პროდუცირების უნარით არ ჩამოუვარდებოდნენ ხორც-პეპტონიან აგარზე გაზრდილ კულტურებს.

7) საცდელი ნიადაგი ანაერობებისათვის იძლეოდა ზრდას Cl. perfringens-ის, Cl. septicum-ის, Cl. oedematiens-ის, Cl. chauvoei-ის, თანაც ეს კულტურები ინარჩუნებდნენ ტოქსიგენობას და სხვა ბიოლოგიურ თვისებებს, როგორიცაა ჰემოლიზური თვისებები გლუკოზიან-სისხლიან აგარზე. კლავდნენ თეთრ თაგვებსა და ზღვის გოჭებს 24–48–72 სთ-ში.

8) საცდელ ნიადაგზე ჩატარებულმა შეწყვილების ცდებმა გვიჩვენა, რომ Cl. perfringens-იდან ტოქსიგენური აქტივობა ეშერიხიებს გადაეცემა ჰემოლიზურ ფაქტორთან ერთობლივად, ზოგ შემთხვევაში ცალკე. რეკომბინანტების წარმოქმნის სიხშირე ტოქსიგენობის ფაქტორით ნაკლებია, ვიდრე ჰემოლიზურით.

9) მონოვაქცინები, რომლებიც დამზადებულია M1 შტამის კლოსტრიდიალური რეკომბინანტებისაგან, ხასიათდებოდნენ იმუნოგენური თვისებებით და იცავდნენ ცხოველებს დაღუპვისაგან შესაბამისი დონორის საწყისი კულტურით დასენიანებისას, რაც, თავის მხრივ, წარმოადგენს მტკიცებას, რომ საცდელ ნიადაგზე განხორციელდა პათოგენობის გადაცემა კლოსტრიდიებიდან ეშერიხიებზე.

10) საცდელ ნიადაგზე განხორციელდა Cl. perfringens-ის შტამების პასირება ჰომოლოგიურ შრატში, მისი პათოგენობის დასუსტების მიზნით, მაგრამ ეს თვისება უცვლელი დარჩა. ასევე იყო კონტროლში არსებულ საკვებ ნიადაგებზე.

11) საცდელ ნიადაგზე მრავალჯერად პასირებული Cl. perfringens-ის შტამები თუმცა იზრდებოდნენ სტრეპტომიცინის მაღალ კონცენტრაციებში, არ კარგავდნენ ვირულენტობას, ვირულენტობა სუსტდებოდა და იკარგებოდა მაშინ, როდესაც კულტურას ვყინავდით –70^{0}C-ზე და ამოთესვას ვაწარმოებდით გლუკოზიან-სისხლიან აგარაზე სტრეპტომიცინის კონცენტრაციით 800 ერთ/მლ.

9. პრაქტიკული წინადადებები

1) შეთავაზებულია მშრალი, თხიერი და მყარი საკვები არე, რომელიც დამზადებულია შედარებით იაფი სიმინდის, ხორბლის და სოიოს ფქვილის ექსტრაქტისაგან. სიმინდი შეიცავს ტრიპტოფანს 0,8 გ/კგ-ში, ხორბალი – 1,8 გ/კგ, სოიო – 4,6 გ/კგ; ამინური აზოტი შეთავაზებულ ნიადაგში – 140–160 მგ%, ხორცის წვენში – 145–160 მგ%. პრაქტიკისათვის ამ შეთავაზებული ნიადაგის მნიშვნელობა იმაში გამოიხატება, რომ იგი შეცვლის ძვირად ღირებულ ხორცის, ღვიძლისა და სხვა კომპონენტებისაგან შემდგარ საკვებ ნიადაგებს და ბიომასის დაგროვებით, ტოქსიგენური თვისებებით, ჰემოლიზური აქტივობით, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობით, ბიოქიმიური თვისებებით არ ჩამოუვარდება არსებულ საკვებ ნიადაგებს და უმჯობესია იმით, რომ ეკონომიკურად იაფი ჯდება, რაც მიკრობიოლოგიური ლაბორატორიებისათვის მეტად მნიშვნელოვანია, მითუმეტეს მიკროორგანიზმები ბიოლოგიურ თვისებებს ინარჩუნებენ სრულად.
2) წარმატებით შეიძლება მისი გამოყენება ბიოკომბინატებში, სადაც მიმდინარეობს სავაქცინე შტამების კულტივირება.
3) საცდელი ნიადაგის თვისებებიდან გამომდინარე, იგი შეიძლება შეტანილი იქნეს სახელმძღვანელოებში – მიკრობიოლოგიაში, ეპიზოოტოლოგიასა და სანიტარიაში.

10. გამოყენებული ლიტერატურის სია

1. ბარათაშვილი ი., ყურაშვილი თ., ტივიშვილი თ., ჟვანია მ. ახალი საკვები არე (სოკოს ნარჩენები) ანაერობული მიკროორგანიზმების კულტივირებისათვის. თბილისი, ტ. LX, ნაწ. II., 2002, გვ. 515–522.
2. ბარათაშვილი ი., ყურაშვილი თ., ტივიშვილი თ. ახალ საკვებ არეში კულტივირებული პრობიოტიკების სამკურნალო-პროფილაქტიკური ეფექტურობა. სამეცნიერო შრომათა კრებული, ტ. XXI. თბილისი, 2003, გვ. 160–163.
3. გესლაიძე ქ. ტუნგოს კოპტონის ბაქტერიალური საკვები არე ბრუცელოზის მიკრობების კულტივირებისათვის. სამეცნიერო კონფ. მასალები. თბილისი, 1979, გვ. 106–109.
4. თანიაშვილი ა., ბარათაშვილი ი. და სხვ. აერობული და ანაერობული მიკროორგანიზმების თვისებების შესწავლა ახალ ბაქტერიოლოგიურ საკვებ არეში. სამეცნიერო შრომათა კრებული, ტ. LX, ნაწ. II. თბილისი, 2002, გვ. 155–159.
5. ნაჭყებია ჯ., მ. კაპანაბაძე, დ. ბერაია. E. coli M–17 შტამის ანტაგონისტური მოქმედება კლოსტრიდიებზე. ზოოვეტერინარული უნივერსიტეტის შრომათა კრებული, ტ. LXI. თბილისი, 2003, გვ. 225-227.
6. ნაჭყებია ჯ., მ. კაპანაბაძე, დ. ბერაია. E. coli M–17 შტამის ანტაგონისტური მოქმედება სტაფილოკოკებზე. ზოოვეტერინარული უნივერსიტეტის შრომათა კრებული, ტ. LXI. თბილისი, 2003, გვ. 228-230.
7. ქაფიაშვილი ზ., ბერიანიძე ე. ახალი საკვები არეები. სამეცნ. შრომ. კრებული, ტ. LX, ნაწ. II. თბილისი, 2002, გვ. 180–184.
8. ქაფიაშვილი ზ. ახალი საკვები არეები ლობიოს ჩენჩოზე. ქართული რეფერატიული ჟურნალი, №1. თბილისი, 2001, გვ. 89–93.
9. ჟვანია მ., გესლაიძე ქ. ტუნგოს კოპტონის ჰიდროლიზატზე დამზადებული საკვები არეს გამოყენება ანაერობული მიკროორგანიზმე-

ბის კულტივირებისათვის. სამეცნიერო შრომათა კრებული, ტ. XIX. თბილისი, 2002, გვ. 175–181.

10. ჟვანია მ. ენტეროტოქსემიის საწინააღმდეგო ვაქცინის დამზადების ტექნოლოგია ახალ საკვებ არეში და მისი ეფექტურობის შესწავლა. მეცნიერება და ტექნოლოგიები, №7–9. თბილისი, 2002, გვ. 127–131.
11. Атлас по микробиологии и вирусологии. Н.С. Мотавкина, В.Д. Артемкин. М.: Медицина. 1976.
12. Бабач М.А. Гидролизатные среды. Труды Казахского н/и ветеринарного ин-та, т.40. 1940, с. 106–108.
13. Беленький Д.Э., Макарова Е.П. Соевые среды для патогенных анаэробов. Лабораторная практика, №4. 1935, с. 47–51.
14. Беленький Д.Э., Макарова Е.П. Применение соевых питательных сред для патогенных анаэробов и производство формолвакцины. Советская ветеринария, №7. 1934, с. 35–37.
15. Большой практикум по микробиологии. Под ред. Г.Л. Селибера. М.: Высшая школа. 1962, 491 с.
16. Вальтер О.А. Методы определения водородных ионов. Госхимиздат. 1932, с. 39–41.
17. Введение в молекулярную биологию. Бреслер С.Е. М.: Наука. 1966, 514 с.
18. Введение в молекулярную биологию. Дж. Хаггис, Д. Михи и др. М.: Мир. 1967, 419 с.
19. Вейнберг М. и Гинзбург Л. Анаэробные микроорганизмы и их роль в патологии. 1928, 402 с.
20. Ветеринарная микробиология. Емельяненко П.А., Дунаев Г.В., Куцкий Д.Г. М.: Колос. 1982, 303 с.
21. Ветеринарная иммунология. У.Дж.Герберт. М.: Колос. 1974, 315 с.
22. Гельный А., Муромцев С. Культивирование анаэробных микробов в аэробных условиях на твердых и жидких средах. Труды 1-го Всероссийского съезда микробиологов. 1928, с. 68–71.

23. Ген Э.Ю. К вопросу об анаэробиозе и аэробиозе бактерий. Журнал микробиологии, патологии и инфекционных болезней., №1–2. 1924, с. 234–239.
24. Жуков-Вережников Н.Н., Пехов А.П. Генетика бактерий. М.: Медицинская литератруа. 1963, 458 с.
25. Браун В. Генетика бактерий. М.:Наука 1968, 446 с.
26. Пехов А.П. Генетика бактерий. М.:Медицина. 1977, 375 с.
27. Велме Р., Ботстайн Д., Рот Дж. Генетика бактерий. М.: Мир. 1984, 415 с.
28. Галинкин В.А., Зайкина Н.А., Кочерович В.И., Курбанов И.З. Питательные среды. М. 2006, с. 101–103.
29. Генетика микроорганизмов. Под ред. Тимакова В.Д. М.: Медицинская литература. 1963, 395 с.
30. Генетика микроорганизмов. Под ред. В.Д.Тимакова. М.: Медицина. 1966, 367 с.
31. Глотова Е.В. Анаэробы и заболевания, вызываемые ими. Биомедгиз. 1935, с. 189.
32. Глотова Е.В., Вахмистрова Е.В. О новом методе выращивания анаэробов при доступе воздуха (метод Врублевского). ЖМЭИ, т.VII, №3. 1990, с. 314–317.
33. Глузман М.П., Червяков М.П., Старобинец Г.М. Среда для получения сильного столбнячного токсина. Анналы Мечниковского ин-та, т.1, №2. 1935, с. 97–101.
34. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Высшая школа. 1964, с.311–315.
35. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Под ред. Кашнера Д. М.: Мир. 1981, 511 с.
36. Захарина Д.И. К методике приготовления столбнячного токсина. Труды Ленинградского ин-та вакцин и сывороток, в.1. 1944, с. 141–145.
37. Иммуноглобулины. Под ред. Г. Литшена и Р. Гуда. М.: Мир. 1981, 484 с.

38. Исполатов В.Ф. К вопросу о систематике спорообразующих анаэробов и инфекциях, ими вызываемых у животных и человека. Ветеринарное дело, №1. 1926, с. 86–90.
39. Клейн Б.И. Усовершенствования в диагностике анаэробов газовой гангрены. ЖМЭИ, №9. 1943, с. 327–332.
40. Коваленко Я.Р. Биологические и химиотерапевтические ветеринарные препараты. Огиз-Сельхозгиз. 1948, 248 с.
41. Козлов Ю.А. Питательные среды в медицинской микробиологии. М.: Медгиз. 1950, 214 с.
42. Коротяев А.И., Бабичев С.А., Микробиология, вирусология, иммунология. М. 2004, с. 70.
43. Коршун С.В. Основы медицинской микробиологии, т.1. М., 1930, 347 с.
44. Космодемянский Б.Н. и др. К методике дифференциальной диагностики анаэробов на средах с углеводами. Лабораторная практика, №2. 1941, с.114–118.
45. Кочетасова З.Н., Ефремова С.А., Рыбакова А.М. Санитарная микробиология и вирусология. М.: Медицина. 1987, 350 с.
46. Кузин А.М. Химия и биохимия патогенных микробов. М.: Медгиз. 1946, 215 с.
47. Лактионов А.М., Каган Ф.И., Коваленко Я.Р. и Розанов Н.И. Краткое руководство по ветеринарной лабораторной технике. Сельхозгиз. 1937, 112 с.
48. Львов В.М. Лабораторная диагностика анаэробных заболеваний сельскохозяйственных животных. Сельхозгиз. 1951, 192 с.
49. Макарова–Тарасевич Ю.Н. Основы анаэробной диагностики. Биомедгиз, 1934, 137 с.
50. Меджидов М.М. Справочник по микробиологии питательным средам. М. 2003. с. 90–91.
51. Мейнелл Дж., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология. М.: Мир. 1967, 496 с.

52. Мельник М.И. Простой метод выращивания анаэробов, доступный любой бактериологической лаборатории. Врачебное дело, №21–22, 1932, с. 77–80.
53. Методы исследований в иммунологии. Под ред. И.Лефковитса, Б.Перниса. М.: Мир. 1981, 138 с.
54. Микробиология, гигиена и безопасность питания. Дараселия Г.Я. Тбилиси. 2006, 591 с.
55. Микробиологическая диагностика заболеваний сельскохозяйственных животных. Розанов И.И. М.: Сельскохозяйственная литература. 1952, 508 с.
56. Микробиология. Тимаков В.Д. М.: Медицина. 1982, 512 с.
57. Микробиология. Мишустин Е.Н., Емцов В.Е. М.: Колос. 1978, 351 с.
58. Микробиология. Пяткин К.Д., Кривошеин Ю.С. М.: Медицина. 1981, 514 с.
59. Микробиология. Гусев М.В., Тинеева Л.А. М. Изд-во Московского университета. 1978, 408 с.
60. Микробиология с техникой микробиологических исследований. Утевский Н.Л. М.: Медицина, 1975, 415 с.
61. Минкевич И.Е. К методике определения ферментативных свойств патогенных анаэробов. Труды Военно-медицинской академии, т.XIV, 1938, с. 69–73.
62. Миронов С. Выращивание анаэробов в изолированных пробирках и чашках Петри. Микробиологический журнал, т. X, вып.1. 1930, с. 137–142.
63. Мисловицер Е. Определение концентрации водородных ионов в жидкостях. 1932, 135 с.
64. Мозгов И.Е. Антибиотики в ветеринарии. М.: Колос. 1971, 253 с.
65. Молекулярная генетика. Под ред. А.Н. Белозерской. М.: Мир. 1964, 369 с.
66. Молекулярная микробиология. Под ред. В.Н. Ильященко. М.: Мир. 1977, 417 с.
67. Муромцева С.Н. Выращивание патогенных анаэробов при доступе воздуха на жидких и твердых средах. ЖМЭИ, т.VII, №1. 1830, с. 314–317.
68. Начкебия Д. и др. Изучение изменчивости Кл. перфрингенс типа Д. Ветеринария, №10. 1977, с. 187–193.

69. Начкебия Д. Причинная обусловленность патогенности эшерихий, связанная с совместным обитанием их с клостридиями. Известия аграрной науки, №4. 2004, с. 93–97.
70. Начкебия Д. Токсигенные клостридии как причинный фактор патогенности эшерихий. Известия аграрной науки, т.5, №1. Тбилиси, 2006, с. 122–127.
71. Начкебия Д. Опухолевый рост, инфицированный белым мышам протопластами и лизатами токсигенных клостридий и клостридиальными рекомбинантами эшерихий и стафилококков. Известия аграрной нуки, т.5. Тбилиси, 2007, с. 129–132.
72. Нечаевская М.Р., Старобинец Г.М. Картофельная среда для выращивания анаэробов. Анналы Мечниковского ин-та. Харьков, т.I, вып. 2. 1935, с. 207–209.
73. Общая генетика. Алиханян С.Н., Апифьев А.П., Чернин Л.С. М.: Высшая школа. 1985, с. 128.
74. Омелянский В.Л. Практическое руководство по микробиологии. М.–Л., изд-во Академии наук СССР.1940, 159 с.
75. Омелянский В.Л. Краткий курс общей и почвенной микробиологии. 1929, 128 с.
76. Пехов А.П. Мутации у бактерий. М.: Медицина. 1967, 334 с.
77. Пехов А.П. Плазмиды бактерий. М.: Медицина. 1986, с. 105.
78. Пименова М.И. и др. Руководство по практическим занятиям по микробиологии. М. Изд-во МГУ. 1971, 232 с.
79. Пономарев А.В., Павлов Г.А. К методике приготовления высокоактивного столбнячного токсина. Врачебная газета, №15. 1931, с. 37–41.
80. Работнова И.Л. Общая микробиология. М.: Высшая школа. 1966, 412 с.
81. Работнова И.Л. Роль физико-химических условий в жизнедеятельности микроорганизмов. М. Изд-во АН СССР. 1957, с. 197.
82. Роуз Э. Химическая микробиология. М.: Мир. 1971, 294 с.
83. Руководство по ветеринарной санитарии. Под ред. Полякова А.А. М.: Агропромиздат. 1986, 214 с.

84. Руководство по инфекционным и инвазионным болезням, общим для животных и человека. Перадзе Т.В., Б.В. Вершинский, Г.П. Обланенко. Л.: Медицина. 1981, с. 85.
85. Руководство по микробиологической диагностике инфекционных болезней. М.: Медицина. 1973, 624 с.
86. Санитарная микробиология. Под ред. Г.П. Калины, Г.Н. Чистовича. М.: Медицина. 1969, 277 с.
87. Сборник методик по генетике микроорганизмов. Под ред. Р. Клауса и У. Хейса. М.: Медицина. 1970, 248 с.
88. Синай Г.Я., Биргер С.Г. Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях.. М.: Гос. изд-во медицинской литературы. 1949, 353 с.
89. Синай Г.Я., Биргер С.Г. Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях. 1945, 414 с.
90. Справочник ветеринарного лаборанта. Под ред. В.Я. Антонова. М.: Колос. 1981, 248 с.
91. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Под ред. Биргера М.О. М.: Медицина. 1973, 337 с.
92. Теоретические и экспериментальные основы генетического анализа бактерий. М.: Медицина. 1975, 314 с.
93. Фробишер М. Основы микробиологии. М.: Мир. 1965, 557 с.
94. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир. 1987, 559 с.
95. Шлегель М.А. Справочник по питательным средам. М. 2009, с. 73–75.
96. Эпизоотология и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. Под ред. А.А. Конопаткина. М.: Колос. 1984, 544 с.
97. Allen M.B. The thermophilic aerobic sporeforming bacteria. Bacteriol. Rev., 17. 1953, p. 217–221.
98. Alsobrook D. et al. Effect of temperature on the cellular infegriti of Bacillus psichrophilus. Can.J.Microbiol. 18. 1978, p. 101–104.

99. Asuma Y. et al. Production of psichrobiolic mutants from mesophilic bacteria by ultraviolet irradiation. J.Dairy Sci., 45, 1962, p. 222–225.

100. Brison J. Выращивание анаэробных бактерий в присутствии воздуха. Societe francaise de Microbioloque Juillet, 1950, p. 312–315.

101. Brison J., Babin L.Выращивание анаэробных бактерий в присутствии натриевых солей. Comptes Rendus de la Societe de Biologie, t.144, N.17–18. 1950, p. 147–150.

102. Celarek I., Feigin B. Антигенная общность токсинов B.histolyticus и стафилококков. Comptes Rendus de la Societe de Biologie, t. 126, N 24–25. 1937, p. 299–303.

103. Celarek I., Stetkicwier. Изучение гемотоксинов газовой гангрены. Comptes Rendus de la Societe de Bioloqie, t. CXXII, N16, 1936, p. 216–220.

104. Frei N. Проблемы анаэробиоза. Berliaer tierartztlide Wochenschrift, S.198–200. 1934, p. 198–200.

105. Goldic I. Анаэробные культуры с помощью лейкоцитарных и бактерийных продуктов.Annales de I'Institut Pasteur, t.XVIII, N2. 1932, p. 133–138.

106. Guellin A. Чистая желчь как среда для быстрого выделения некоторых анаэробных микробов кишечной флоры. Comptes Bbendus de la Societe de biologie, t.126, N26, 1937, p. 96–100.

107. Gunsalus I.C., Stanier R.Y. The Bacteria, Bd.IV, Academic Press, New York. London, 1962, p. 314–318.

108. Hastings and Mc Coy Elizabeth. Культивирование анаэробных бактерий с помощью восстановливающего железа. The Journal of Bacteriologi, vol. XVIII. 1932, p. 409–411.

109. Ingraham J.L., et al., Grouth of the Bacterial Cell, Sinauer Ass.Ins. Sunderland, Mass. 1983, p. 359–362.

110. Kholl H. Манометрические изменения в чашке для анаэробного выращивания. Zentrulblatt fur Bacterioloqie, Bd.137, H.3/4/ 1936, p. 205–208.

111. Koschucharoff A. Простой способ выращивания анаэробов. Zentrablatt fur Bacteriologie. Bd. 140, H.1, 1937, p. 348–351.

112. Mandelstam I. Biochemistry of Bacterial Growth, 3 Aulf, Blackwell Sci, Publ. Oxford, 1982, p. 337–342.

113. Mc Coq Elisabeth. Анаэробные микробы The Journal of infections diseases, vol.56, N3. 1935, p. 135–140.

114. Mehek I., Fench Z. Theoretical and Methodological Basis of Continuous Culture of Microorganisms, Academic Press, New York, London, 1966, p. 314–318.

115. Murrai Pullar, Cleph.тся кровь – простая среда для культивирования анаэробов. Journal bakteriologi, vol.32, 1936, p. 124–127.

116. Patocka Francois. Новый метод культивирования аэробов и анаэробов, полученных из крови. Comptes Rendas de la Societe de Biologie, t. CXXIII, N23, 1936, p. 93–97.

117. Pesch R., Ruland C. Вариабельность анаэробиоза. Zentalblatt fur Bacterioloqie orig., 134. 1935, p. 116–121.

118. Prebot A. et Tatatanel J. Действие некоторых веществ на ферментативные свойства анаэробов. Annalles de J'Institut Pasteur, t. 72, N5–6, 1946, p. 217–222.

119. Riemsdijk M. Простой метод для защиты от кислорода пластинчатых анаэробных посевов. Zentalblatt fur Bacterioloqie, oriqi, Bd. 143, H. 3/4. 1939, p. 85–89.

120. Roots D.E. Стимулирование роста анаэробов добавлением экстракта печени к питательной среде. Zentrolblatt fur Bacterioloqie, orig, Bd.149, H.3. 1943, p.357–361.

121. Schlegel H.C., Kroger E. Anreicherung-Skultur und Mutantenausleje, Zentralblat Bacteriol. Stugart, New York, 1965, p. 357–363.

122. Schmidt Erust. К вопросу культивирования анаэробов. Zentalblatt fur Bacterioloqie, Bd.127, H.4/6. 1933, p. 146–151.

123. Scott, Brandly C. Применение восстановленного железа для культивирования анаэробов. Journal of Bacteriology, vol. VXXXVI, N1. 1933, p. 87–91.

124. Sedallion P., et al.Выращивание анаэробов на среде, содержащей тиоталот натрия. Comptes Rendus de la Societe de Bioloqie, t.143, N15–16. 1949, p.118–123.

125. Sprai R. Полутвердые среды для выращивания и распознoования спорообразующих анаэробов. Journal of Bacteriolog, vol.32, N2. 1936, p. 214–217.

126. Stadler P., Meissner S. К вопросу о токсинообразовании бактерий. Zentralblatt fur Bacteriologie, orig, Bd. 134. 1935, p. 419–425.

127. Starr M.P., et al. The prokaryotesir Handbock on Habites, Isolation and Identification of bacteria. Spriger Verlaj, Berlin, Heidelberg, New York 1981, p. 365–369.

128. Stouthamer A.M. Energetic Aspects of the Growth of Microorganisms in microbiol. Energetics, Cambridge University Press. London, 1977, p. 212–218.

129. Veldkamp H. Continous Culture in Microbiol. physiology and Ecology, Neadowfield Press, Durham, 1976, p. 104–105.

130. Wakamotsu I. Пригодность фортнеровского метода для культивирования B. Chauvoei и Vibrion septique. Dentsche tierarzliche Wuchenschritt, 1934, p. 58–63.

131. Weinberga M., Nativelle R. Анаэробные микробы. Paris Messon, 1937, 216 p.

132. Zeissler I. Инфицирование анаэробными бациллами. Klinische Wochenschrift, N13. 1934, p. 178–183.