სსიპ-სოხუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და

ჯანდაცვის ფაკულტეტი

ლალი ღვალაძე

იმუნოდიაგნოსტიკის ტესტ-სისტემის გაუმჯობესება ჯილეხის აღმძვრელის სწრაფი ინდიკაციისათვის

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის

მოსაპოვებლად წარდგენილი

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

ზაურ ლომთათიძე, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,

სოხუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტის პროფესორი

სერგო რიგვავა, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,

პროფესორი, მედიკო-ბიოლოგიური აკადემიის აკადემიკოსი

თბილისი

2016

სარჩევი

შესავალი 1
კვლევის მიზანი და ამოცანები 2
ნაშრომის მეცნიერული სიახლე 3
ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება 4
დაცვაზე გამოგვაქვს 4
კვლევის შედეგების აპრობაცია 4
დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული პუბლიკაციების ჩამონათვალი 5
1. ლიტერატურის მიმოხილვა
1.1 ჯილეხი. ისტორიული ცნობები. გავრცელება. სოციალურ-ეკონომიკური მნიშვნელობა 7
1.2 B. anthracis ვირულენტობის განმსაზღვრელი ფაქტორები და პათოგენეზი 10
1.3 ჯილეხის ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა და Bacillus გვარში შემავალი სახეობების იდენტიფიცირება 13
ბაქტერიოსკოპია 16
კულტურის გამოყოფა 16
ბაქტერიოლოგიური მეთოდი 16
სეროლოგიური დიაგნოსტიკა 17
იმუნოფლუორესცენცია 17
პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია 18
პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია 18
ფაგოდიაგნოსტიკა 19
ალერგიული დიაგნოსტიკა, კანის სინჯი 19
ჯილეხის ბაცილის იდენტიფიკაცია 20
ბიოცდა 20
1.4 პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია (პჰრ) ინფექციურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის ექსპრესმეთოდი 21
2.0 საკუთარი გამოკვლევები 29
2.1 გამოკვლევის მასალა და მეთოდები 29
3.0 ექსპერიმენტული ნაწილი
3.1. საქართველოში 2000-2015 წწ ჯილეხით დაავადების დინამიკა 38
3.2 ჯილეხის სავაქცინე შტამების /,,სტი'', 34F_2/ და ბაცილების გვარში შემავალი ზოგიერთი სახეობების სტაბილურობის შესწავლა 51
3.3.ჯილეხის სავაქცინე და Bacillus გვარში შემავალი მიკრობების ანტიბიოტიკებისა და სულფადიმეზინის მიმართ მგრძნობელობა 59
3.4. ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარის სხვა სახეობების მიკრობთა ფაგომგრძნობელობა 50
3.5. ჯილეხის იმუნოდიაგნოსტიკის გაუმჯობესებული ტესტ-სისტემის შემუშავება 67
3.6. ჯილეხის სადიაგნოსტოკო ტესტ-სისტემის სპეციფიურობის შესწავლა 69

3.7. ,,სტი“ (სანიტარიულ-ტექნიკური ინსტიტუტი) სავაქცინე შტამით . . . .
ხელოვნურად კონტამინირებული ტყავის, ნიადაგისა და წყლის
ნიმუშების გამოკვლევა შემუშავებული ტესტ–სისტემით 69
3.8. ტყავ-ნედლეულის, წყლის და ნიადაგის გამოკვლევა ჯილეხზე 71
მიღებული შედეგების ანალიზი 76
დასკვნები 89
პრაქტიკული წინადადებები 91
ინსტრუქცია 92
გამოყენებული ლიტერატურა 98
საქართველოში ჯილეხის ახლადაღმოცენებული კერების ატლასი 109
სურათები 125

ცხრილების ჩამონათვალი

ცხრილი 1	საქართველოში 2000-2011 ჯილეხით დაავადებული სასოფლო – სამეურნეო ცხოველების დინამიკა
ცხრილი 2	ჯილეხზე გამოსაკვლევი მდინარეთა წყლების წყალბადიონთა კონცენტრაციის (pH-ის) მაჩვენებელი
ცხრილი 3	საქართველოში ჯილეხზე არაკეთილსაიმედო პუნქტების ნიადაგების ნიმუშების pH-ის მაჩვენებლები.
ცხრილი 4	ჯილეხის სავაქცინე შტამებისა და Bacillus-ის გვარში შემავალი ზოგიერთი სახეობების მორფოლოგიური და ტინქტონიალური თვისებები
ცხრილი 5	ჯილეხის სავაქცინე შტამების და Bacillus-ის გვარის მიკრობთა კულტურალური ნიშან-თვისებები
ცხრილი 6	ჯილეხის სავაქცინე და Bacillus-ის გვარში შემავალი მიკრობთა ფერმენტული აქტივობა
ცხრილი 7	ჯილეხის სავაქცინე და Bacillus-ის გვარში შემავალი მიკრობების საქაროლიზური თვისებები
ცხრილი 8	ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარის სხვა სახეობების ანტიბიოტიკომგრძნობელობა
ცხრილი 9	ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარის სხვა სახეობების ფაგომგრძნობელობა
ცხრილი 10	ჯილეხის ჰიპერიმუნური შრატების სპეციფიკური აქტივობა (ტიტრი)
ცხრილი 11	სხვადასხვა მეთოდით დამუშავებული ერითროციტების სპეციფიკურობის შესწავლა
ცხრილი 12	ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მგრძნობელობა და სპეციფიკურობა პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში (პჰრ-ში)
ცხრილი 13	ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მგრძნობელობის
ცხრილი 14	ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის სპეციფიკურობის მაჩვენებლები
ცხრილი 15	,,სტი'' (სანიტარიულ-ტექნიკური ინსტიტუტი) სავაქცინე შტამით ხელოვნურად კონტამინირებული ნიადაგის, ტყავის და წყლის ნიმუშების გამოკვლევა /პჰრ/-ით
ცხრილი 16	ტყავ-ნედლეულის, ნიადაგის და მდინარეთა წყლების გამოკვლევის შედეგები.
ცხრილი 17	ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის შესწავლა მგრძნობელობაზე თეთრ თაგვებზე

სურათების ჩამონათვალი:

სურათი 1	Bac. Anthracis ზრდა ბულიონში და აგარზე.
სურათი 2	Bac. anthracis სავაქცინე შტამების კოლონიები ბრეინჰარტის აგარზე.
სურათი 3	Bacillus გვარის მიკრობთა ზრდა ბრეინჰარტის ბულიონში და აგარზე.
სურათი 4	Bac. cereus კოლონიები აგარზე.
სურათი 5	ბაცილების გვარის მიკროორგანიზმების ზრდა ირიბ აგარზე.
სურათი 6	Bac. megatherium ზრდა ბრეინჰარტის აგარზე.
სურათი 7	H_2S–ის ტესტი.
სურათი 8	NH_3 გამოყოფა.
სურათი 9	რძის რედუქცია.
სურათი 10	Bac. anthracis $34F_2$ (არაჰემოლიზური).
სურათი 11	Bacillus გვარის მიკრობების რძის რედუქცია.
სურათი 12	Bacillus გვარის მიკრობები (ჰემოლიზი).

სქემა 1	ჯილეხით მკვდარი ცხოველების ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის სქემა.
სქემა 2	სქემა 2. ნიადაგის და ტყავის ნიმუშების Bac. anthracis ინდიკაციის სქემა.

რუკა 1. საქართველოში ჯილეხის ახლადაღმოცენებული კერები.

შესავალი

მრავალმხრივი შესწავლის და გატარებული ღონისძიებების მიუხედავად ჯილეხი ჯერ კიდევ რჩება მსოფლიოს მასშტაბით აქტუალურ პრობლემად. ჯილეხისადმი დიდ ინტერესს განაპირობებს სოციალურ-ეკონომიური მნიშვნელობა და საკითხთა ნუსხა, რომლებიც ეხება აღმძვრელის ბუნებას, პათოგენეზს, დიაგნოსტიკას, სამკურნალო-პროფილაქტიკურ საშუალებებს და სხვა.

ჯილეხის აღმძვრელის მიერ გარემოში სპორის წარმოქმნა და ნიადაგში ათეული წლების განმავლობაში სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება, სპოროვანი ფორმიდან ვეგეტატურში და პირუკუ გადასვლა, მუდმივად ქმნის დაავადების აფეთქების საშიშროებას, მნიშვნელოვნად აფერხებს აღმძვრელის, როგორც ბიოლოგიური ობიექტის, ლიკვიდაციას [Гаврилов... 2006; Driks 2009; Hampson... 2011].

სტატისტიკა მოწმობს, რომ ჯილეხის არეალი გლობალურია, თუმცა აღინიშნება გარკვეული ცვლილებები სტრუქტურაში. [Hugh-Jons, 1990] გამოკვლევებით მნიშვნელოვანი ცვლილებებია ჯილეხით ცხოველთა დაავადებაში, თუმცა ჯერ კიდევ ბევრი რამ უცვლელია [Бакулов... 2000]. მსოფლიოს მასშტაბით ბოლო 30 წლის მანძილზე ჯილეხის გეოგრაფიული გავრცელება უმნიშვნელოდ შეიცვალა და ხუთივე კონტინენტზეა რეგისტრირებული, თუმცა გავრცელების სფერო კონტინენტების და სახელმწიფოების მიხედვით განსხვავებულია.

ჯილეხზე არაკეთილსაიმედოა საქართველოს მოსაზღვრე რეგიონები და ქვეყნები: ჩრდილოეთ კავკასია, აზერბაიჯანი, სომხეთი, თურქეთი, ირანი და სხვა. ამ მხრივ არასახარბიელო მდგომარეობაა საქართველოშიც, რასაც მოწმობს 1642 არაკეთილსაიმედო, მათ შორის 10% -მდე აქტიური კერის არსებობა [Ramishvili... 2004; Кухалашвили, 2006]. ამრიგად მუდმივად იქმნება საშიშროება ადამიანისა და ცხოველისთვის, ჯილეხის აღმძვრელის, შემოტანის და გავრცელების

თვალსაზრისით, რაც საქართველოს სატრანზიტო და აბრეშუმის გზას უქმნის პრობლემას.

აღნიშნულიდან გამომდინარე ჯილეხის საწინააღმდეგო ბრძოლის ღონისძიებების გატარება მოითხოვს კომპლექსურ მიდგომას, რომლის ერთ-ერთ ძირითად რგოლს წარმოადგენს აღმძვრელის უმოკლეს დროში ინდიკაცია გარემოსა და ბიოლოგიურ ობიექტებში.

ჯილეხზე დიაგნოზის დასმა ძირითადად დაფუძნებულია საკმაოდ შრომატევად ბაქტერიოლოგიურ გამოკვლევაზე, რომელსაც საშუალოდ 6-7 დღე ესაჭიროება. შემუშავებული და პრაქტიკაში გამოცდილია ექსპრესმეთოდები, მათ შორის: პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზი, იმუნოფლუორესცენცია მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით და სხვა, რომლებიც ძვირადღირებული და შრომატევადია, მოითხოვს სპეციალურ აპარატურას, ამიტომ შედარებით მარტივი და საიმედო ალტერნატული გზების და მეთოდების ძიება სავეტერინარო და სამედიცინო პრაქტიკის აუცილებელი მოთხოვნაა. ასეთ ალტერნატივად გვევლინება პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია, რომელიც სამედიცინო პრაქტიკაში წარმატებით არის გამოყენებული ბაქტერიული, ვირუსული და სხვა ეტიოლოგიის ინფექციურ დაავადებათა სადიაგნოსტიკოდ, აღნიშნული რეაქციით აღმძვრელის ინდიკაცია და ინფექციურ დაავადებაზე დიაგნოზის დასმა 1,5- 6 საათში ხორციელდება [Лещук... 2010; Kim... 1993; Mzali... 2007; Chen... 2015].

კვლევის მიზანი და ამოცანები.

ჯილეხის პრობლემებიდან გამომდინარე, ნაშრომის მიზანია, პათმასალაში, ტყავ-ბეწვეულში, მდინარეთა წყლებში და ნიადაგში ჯილეხის აღმძვრელის სწრაფი ინდიკაციისათვის გაუმჯობესებული სადიაგნოსტიკო სეროლოგიური ტესტ-სისტემის შემუშავება და გამოცდა.

დასახული მიზნის განხორციელება მოიცავდა შემდეგი ამოცანების რეალიზებას:

- საქართველოში 2000-2011 წლებში ჯილეხის ეპიდემიოლოგიური სიტუაციის დადგენას;
- ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარში შემავალი ზოგიერთი ეტალონური შტამების ტიპურობაზე კონტროლს;
- პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში ჯილეხის სწრაფი ინდიკაციისათვის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის შემუშავებას და გამოცდას;
- შემუშავებული სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის სპეციფიკურობის და მგრძნობელობის დადგენას;
- ლაბორატორიულ პირობებში, შემოთავაზებული ტესტ-სისტემის გამოყენებით ჯილეხის სავაქცინე შტამებით და ბაცილების გვარში შემავალი ზოგიერთი სახეობებით ხელოვნურად კონტამინირებულ ობიექტებში - ტყავ-ბეწვეულში, მდინარეთა წყლებსა და ნიადაგში Bac. anthracis ინდიკაციას;
- პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში შემუშავებული სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემით გარემო არის ობიექტების – ტყავ-ბეწვეულის, ნიადაგის და მდინარეთა წყლების ნიმუშების გამოკვლევას.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე

- შესწავლილია 2000-2011 წწ. საქართველოში სასოფლო-სამეურნეო ცხოველებსა და ადამიანებში ჯილეხის გავრცელების დინამიკა;
- შედგენილია ახლი, არაკეთილსაიმედო პუნქტების რუკა;
- შემუშავებულია გაუმჯობესებული სეროლოგიური ტესტ-სისტემა პათოლოგიურ მასალაში, ტყავ-ბეწვეულში, მდინარეთა წყლებში და ნიადაგში ჯილეხის ექსპრეს დიაგნოსტიკისათვის;
- ტესტ–სისტემა – ჯილეხის სპეციფიკური და მაღალმგრძნობიარე ერითროციტარული იმუნოგლობულინური (ანტისხეულური) დიაგნოსტიკუმია, რომელიც პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში დროის მცირე მონაკვეთში (1,5–6 საათი) Bac. anthracis ინდიკაციის საშუალებას იძლევა;

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება

- სტატისტიკური მასალის ანალიზით შედგენილია, საქართველოში 2000-2011 წწ ჯილეხზე არაკეთილსაიმედო პუნქტების რუკა, რაც კონკრეტულ არეალში ჯილეხის საწინააღმდეგო ღონისძიებების ეფექტურად გატარების საშუალებას იძლევა.
- ჯილეხის აღმძვრელის ინდიკაციისათვის შემუშავებულია და დამზადებულია თანამედროვე, მაღალმგრძნობიარე სეროლოგიური ტესტ-სისტემა, რომელიც ტყავ-ბეწვეულში, წყალსა და ნიადაგში Bac. anthracis სწრაფი გამოვლენის საშუალებას იძლევა.

დაცვაზე გამოგვაქვს

- საქართველოში 2000-2011 წწ ჯილეხის ეპიდემიოლოგიური სიტუაცია;
- ჯილეხის აღმძვრელის სწრაფი ინდიკაციისათვის შემუშავებული იმუნო-დიაგნოსტიკის ტესტ-სისტემა;
- ჯილეხის გაუმჯობესებული სეროლოგიური სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის ლაბორატორიული შესწავლის მონაცემები;
- ჯილეხზე ექსპრეს–სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემით ცხოველთა ტყავ-ბეწვეულის, მდინარეთა წყლების და ნიადაგის გამოკვლევის შედეგები.

კვლევის შედეგების აპრობაცია

სადისერტაციო ნაშრომის შესახებ მასალები მოხსენიებულია: საქართველოს სახელმწიფო აგრარული უნივერსიტეტის, სავეტერინარო მედიცინის ფაკულტეტის ინფექციურ და ინვაზიურ სნეულებათა დეპარტამენტის სხდომაზე; ოქმი № 5.02.2010. თბილისი.

საქართველოს სახელმწიფო აგრარული უნივერსიტეტის სტუდენტთა და დოქტორანტთა სამეცნიერო კონფერენციაზე 20.01.2010 წ.

საერთაშორისო აგრო-ბიომრავალფეროვნების კონფერენციაზე, თბილისი 2010 წ. საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი.

საქართველოს სახელმწიფო აგრარული უნივერსიტეტის დოქტორანტთა სამეცნიერო კონფერენციაზე 15.04.2011წ.

გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის, ვირუსოლოგიისა და იმუნოლოგიის ლაბორატორიაში. ოქმი № 09.11.2015 წ.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული პუბლიკაციების ჩამონათვალი

1. მ. ნათიძე, ს. რიგვავა, **ლ. ღვალაძე.** „Bac. anthracis ექსპრესინდიაკცია სპეცი-ფიკური ფაგის ამპლიფიკაციით და პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით“. საერთაშორისო კონფერენცია „აგრობიომრავალფეროვნების მდგრადი განვითარება“. 2009 წ.
2. **ლ. ღვალაძე.** „პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით ტყავ-ნედლეულში ჯილეხზე გამოკვლევის შედეგები“. საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი. სამეცნიერო შრომათა კრებული. 2009 წ.
3. **ლ. ღვალაძე.** „ჯილეხის სავაქცინე კულტურების შესწავლა და ეტალონური შტამების შერჩევა“. საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი. 2009 წ.
4. მ. ნათიძე, ს. რიგვავა, **ლ. ღვალაძე.** „ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქციით მდინარეთა წყლებში Bac. anrthacis ექსპრესინდიკაცია“. საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე. 2010 წ.
5. **ლ. ღვალაძე.** „ჯილეხის სავაქცინე შტამების მახასიათებლები“. საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე. 2011 წ.
6. **ლ. ღვალაძე.** „ჯილეხის აღმძვრელის ინდიკაციისათვის ერითროციტული, იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმის შემუშავება და გამოცდა“. საქარ-თველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე. 2011წ.
7. მ. ნათიძე, ს. რიგვავა, **ლ. ღვალაძე.** „საქართველოში ჯილეხის ახლად-აღმოცენებული კერების ატლასი“. თბილისი. 2012 წ.

8. ს. რიგვავა, მ. ნათიძე, **<u>ლ. ღალაძე.</u>** „Способ получения иммуноглобулинового сибиреязвенного эритроцитарного диагностикума“. საქართველოს ინტელექ-ტუალური საკუთრების ეროვნული ცენტრი. 2014 წ.
9. **<u>ლ. ღვალაძე,</u>** ზ. ლომთათიძე, ს. რიგვავა, მ. ნათიძე. „Bacillus anthracis აღმოსაჩენად გაუმჯობესებული სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის შემუშავება“. სოხუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი. 2016 (ჩაბარებულია გამოსაქ-ვეყნებლად).

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 ჯილეხი. ისტორიული ცნობები. გავრცელება. სოციალურ-ეკონომიკური მნიშვნელობა

ჯილეხი გომერის, ცელსის და ვერგილიუსის დროიდან ცნობილი ზოონოზური ინფექციური დაავადებაა. ის ლიტერატურულ წყაროებში სხვადასხვა სახელწოდებით არის მოხსენიებული. არაბები მას „თურქულ ცეცხლს“ (Ignis persicus), გერმანელები და რომაელები „წმინდა ცეცხლს“ (Ignis sacer) უწოდებდნენ. სახელწოდება „ციმბირული წყლული“ (Сибирская язва) ეკუთვნის ს. ს. ანდრიევსკის, რომელმაც აღწერა დაავადება ურალში ეპიდემიის დროს. მანვე თვითდასნებოვნებით დაადგინა ადამიანებსა და ცხოველებში ჯილეხის აღმძვრელის მსგავსება. ჯილეხის აღმძვრელი პირველად აღწერეს პოლენდერმა, ბრაუელმა 1849 წელს და დავენმა (1850). ჯილეხის აღმძვრელის კულტურა გამოყო რ. კოხმა 1876 წელს [Левина... 1968].

ჯილეხის მიერ მიყენებული ზარალი, მიუხედავად მისი სპორადულობისა, მნიშვნელოვანია, რასაც განსაზღვრავს მისი მაღალი ლეტალობა, ეპიდემიის საწინააღმდეგო ღონისძიებებსა და დაავადებულთა სამკურნალოდ გაწეული ხარჯები და სხვა.

ჯილეხის მსგავსად მიმდინარე დაავადებები აღწერილია რუსეთის ტერიტორიაზე. XI-XII საუკუნის ძველ რუსულ ჩანაწერებში მოხსენებულია „კარბუნკულური დაავადება“, რომელმაც შეიწირა მრავალი ადამიანისა და ცხოველის სიცოცხლე. ცხოველებში ფართო ეპიზოოტიები და ეპიდემიები ადამიანებში აღწერილია რუსეთში. ა. კირშერის მონაცემებით (1607). ცენტრალურ ევროპაში „წმინდა“ ანუ „მფრინავი ცეცხლით“ (ასე უწოდებდნენ ჯილეხს) გარდაიცვალა 60.000 ადამიანი [Sobernheim, 1931]. ინგლისში 1910 წ. ჯილეხის 1496 შემთხვევაა აღწერილი [Бакулов... 2001].

ციმბირის მხარეში ცნობილი იყო ეგრეთწოდებული „წყეული მინდვრები“ და საძოვრები, რაც ხდებოდა საქონლის მასობრივად გაწყვეტის მიზეზი. კერძოდ, აღნიშნულ მინდვრებზე 1907 წ. განადგურდა 200.000 ირემი. 1875 წ. აღნიშნულმა

დაავადებამ ციმბირში 1000. 000 ცხენი იმსვერპლა. 1897- 1960 წწ ჯილეხმა მოსპო 155 871 ცხენი, 16400 მსხვილფეხა პირუტყვი, 19313 ცხვარი და 3876 ღორი.

ჯილეხის მასობრივად გავრცელების შემთხვევები აღწერილია საქართველოშიც. მიწსახკომის სავეტერინარო სამმართველოს ცნობით 1922-1929 წწ ე.ი. ექვსი წლის განმავლობაში ხუზარათი (ჯილეხი) დაავადდა 6649 სული პირუტყვი, მათ შორის 6177 დაიხოცა, ანუ ყოველ 100 სულზე სიკვდილიანობამ 92 შეადგინა. ამავე პერიოდში აიცრა 176 129 სული პირუტყვი. აცრილებიდან 122 მოკვდა, ანუ ყოველი 100-დან ერთი [ფარეიშვილი, 1929].

К. С. Капанадзе–ს (1959) მონაცემებით, 1883-1914 წწ თბილისის, ქუთაისის გუბერნიებსა და ბათუმის ოლქში დადგენილი იყო ჯილეხზე 1834 არაკეთილსაიმედო პუნქტი, სადაც დაავადდა 14139 სული საქონელი, მათ შორის 10061 (71,1%) მოკვდა.

ამიერკავკასიის სავეტერინარო საზოგადოების 25.10.1911 წლის სხდომის ჩანაწერებით 1899-1909 წწ ჯილეხზე არაკეთილსაიმედო პუნქტების რიცხვი 1377 შეადგენდა, დაავადებული ცხოველების რაოდენობამ 7354 შეადგინა. ავადმყოფობამ იმსხვერპლა 6525 სული პირუტყვი [Капанадзе, 1960; Мнацаканян, 1968].

1878-1883 წწ გერმანიაში ჯილეხით მიყენებულმა ზარალმა მარტო პრუსიის მასშტაბით 1,5 მლნ მარკა შეადგინა, 1842 წ საფრანგეთის ბორის დეპარტამენტში ჯილეხის ეპიზოოტიით დახოცილი ცხოველების ღირებულება 7 მლნ ფრანკად შეფასდა.

პოლენდერმა გერმანიაში (1949), ხოლო რაინემ და დავენმა საფრანგეთში (1850) პირველად აღმოაჩინეს ჯილეხის აღმძვრელი მკვდარი ცხოველის სისხლში.

რუსმა მკვლევარმა ფ.ბრაუელმა 1857-1858 წწ გამოკვლევებით დაამტკიცა სისხლში ჩხირისმაგვარი სხეულების არსებობა და აღწერა ისინი.

1863 წ. დავენმა დაადგინა, რომ დასნებოვნებული ცხოველის სისხლში აღმოჩენილი ჩხირისებრი მიკროორგანიზმი ავადმყოფობის გამომწვევია.

ე. კოხმა 1876 წ გამოყო ჯილეხის აღმძვრელის სუფთა კულტურა და დაადგინა სპორის წარმოქმნის შესაძლებლობა.

ლუი პასტერმა (1877 წ) მიიღო ჯილეხის აღმძვრელის სუფთა კულტურა, შეისწავლა მისი ზრდის თავისებურებები ხელოვნურ საკვებ არეებზე, დაადგინა, რომ აღმძვრელი შეიძლება დიდხანს შენარჩუნდეს ნიადაგში.

ჯილეხთან ბრძოლის უმნიშვნელოვანესი ეტაპია 1881 წელს პასტერის მიერ ატენუაციის პრინციპის გამოყენებით (დასუსტება) პირველი და მეორე ვაქცინების შემუშავება, დამზადება და სასოფლო სამეურნეო ცხოველთა აქტიური იმუნიზაციისათვის გამოყენება [Ипатенко, 2002].

ანალოგიურ პრინციპზე დაყრდნობით ლ. ცენკოვსკიმ (1883 წ) დაამზადა სხვადასხვა ვირულენტობის პირველი და მეორე ვაქცინები.

ნ. გინსბურგმა (1940 წ) მიიღო ჯილეხის ვირულენტური კულტურიდან „წითელი ნივა“ სავაქცინე უკაფსულო მუტანტი ,,სტი-1'' (სანიტარულ-ტექნიკური ინსტიტუტი), რომელიც წარმატებით გამოიყენებოდა და ამჟამადაც გამოიყენება ადამიანისა და ცხოველების იმუნიზაციისათვის.

ჯილეხის მიმართ განსაკუთრებით არაკეთილსაიმედო მდგომარეობა აღინიშნა კავკასიის რეგიონში 1925-1929 წწ. მისი დადასტურებაა 9449 არაკეთილსაიმედო კერების არსებობა და 38191 დაავადებული ცხოველი. ამავე პერიოდში დაავადდა 2061 ადამიანი.

ჯილეხზე არაკეთილსაიმედო სიტუაციაა საქართველოს მოსაზღვრე ქვეყნებში. არასრული ინფორმაციით სომხეთსა და აზერბაიჯანში ასეულობით არაკეთილსაიმედო პუნქტია, რაც პერიოდულად ინფექციის აფეთქების მიზეზია [Мнацаканян, 1968].

თანამედროვე პერიოდში ჯილეხი რჩება მსოფლიო მასშტაბით უაღრესად მნიშვნელოვან პრობლემად, რასაც ადასტურებს ყოველწლიურად ათასეულობით ცხოველებისა და ასეულობით ადამიანის დაავადებათა შემთხვევები (Г. Л. Черкаский, 2002).

2001 წელს, აშშ-ში Bac. anthracis გამოყენებულ იქნა, როგორც ბიოლოგიური იარაღი, რამაც სერიოზული შეშფოთება გამოიწვია მსოფლიო მასშტაბით [American anthrax outbreak of 2001. http://www.ph; Онищенко... 2003].

1.2 B. anthracis ვირულენტობის განმსაზღვრელი ფაქტორები და პათოგენეზი

B. anthracis პათოგენობა უშუალოდ დაკავშირებულია კაფსულის და ტოქსინის წარმოქმნასთან. ჯილეხის აღმძვრელში ვირულენტობის განმსაზღვრელია px01 და px02 პლაზმიდები, რაც მათი სკრინინგით [Ахмедзянов... 1989] და დნმ-ის გენეტიკური ანალიზით არის დადგენილი [Cherf... 2004; Merabishvili... 2006; Бубашвили... 2009].

B. anthracis პათოგენობის ძირითადი ფაქტორებია კაფსულა და ეგზოტოქსინი. კაფსულა იცავს მიკრობს ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმების ფაქტორების ზემოქმედებისაგან, ხელს უშლის ლეიკოციტების მიერ მათ შთანთქმას და მონელებას. დაავადების საწყის ეტაპზე კაფსულა ვირულენტობის მნიშვნელოვანი ფაქტორია [Ипатенко, 2003].

ეგზოტოქსინი განაპირობებს ჯილეხის კლინიკური ნიშნებისა და სიმპტომების ჩამოყალიბებას. ტოქსინის ზემოქმდება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაზე ფილტვების უკმარისობისა და ჰიპოქსიის განვითარების ფონზე იწვევს ადამიანისა და ცხოველის სიკვდილს.

ჯილეხის აღმძვრელი გამოიმუშავებს რთული აგებულების ეგზოტოქსინს, რომელიც სამი კომპონენტისაგან (ფაქტორისაგან) შედგება: ედემატოგენური (EF) ფაქტორი, პროტექტული ანტიგენი (PA) და ლეტალური ფაქტორი (LF) [Stanley... 1999]. აღნიშნულ ფაქტორებს გამოიმუშავებენ მიკრობის კაფსულიანი და უკაფსულო შტამები. ედემატოგენური ფაქტორი იწვევს ადგილობრივ ანთებით რეაქციას, შეშუპებას და ქსოვილების დაშლას. ქიმიური აგებულებით ლიპოპროტეინია. პროტექტული ანტიგენი დაცვითი თვისების მტარებელია, ის აღჭურვილია გამოხატული იმუნოგენური მოქმედებით. პროტექტული ანტიგენი ცილაა, სუფთა სახით არააქტიურია. [Ипатенко, 2000]. ლეტალური ფაქტორი ცილოვანი ბუნებისაა, დამოუკიდებლად არატოქსიკურია, მაგრამ პროტექტულ ანტიგენთან შერეული კლავს თეთრ თაგვს, თეთრ ვირთხას და ზღვის გოჭს.

ტოქსინის შემადგენელი ნატივური არაკონცენტრირებული ანტიგენი ბიოლოგიურად ინტაქტურია. მისი 30-70-ჯერ კონცენტრირება და ცილოვანი

სუბსტრატებით დამუშავება მნიშვნელოვნად ზრდის აქტიურობას. ტოქსინის სამივე კომპონენტი ერთდოულად მოქმედებს ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმზე. მათ ახასიათებთ გამოხატული ანტიგენური თვისება და სეროლოგიური აქტივობა.

B. anthracis ზოგიერთი შტამი განსაკუთრებით სუსტი ვირულენტობის, ლეტალურ ფაქტორთან შედარებით დიდი რაოდენობით გამოიმუშავებს ედემატოგენურ ფაქტორს, რომელიც განაპირობებს მასობრივი შეშუპებების ჩამოყალიბებას. ბაცილები პირიქით, რომლებიც უხვად გამოიმუშავებენ ლეტალურ ფაქტორს, იწვევენ დაავადების სწრაფ განვითარებას, შეშუპებები უმნიშვნელოა ან არ აღინიშნება.

[Ипатенко... 1990, 2000] გამოკვლევებით ინფექციური პროცესის განვითარებასა და ჩამოყალიბებაში გადამწყვეტია მაკროორგანიზმის რეზისტენტობა, ანუ პათოგენური აგენტისადმი დამცველობითი ფუნქციების ხარისხი. მკვლევართა მიერ დადგენილია, რომ მცოხნავთა სისხლის შრატი აღჭურვილი არ არის ჯილეხის აღმძვრელის მიმართ ბაქტერიოციდული თვისებით, ამიტომ ინფექცია უმეტეს შემთხვევაში სეპტიცემიით მიმდინარეობს. ღორებში, პირიქით სისხლის შრატი გამოირჩევა მაღალი დაცვითი თვისებით, ამიტომ დაავადება ხშირად ლოკალურად მიმდინარეობს, კლინიკური გამოვლინების გარეშე. ამ შემთხევაში საქმე გვაქვს ღორში ჯილეხის მიმართ ბუნებრივ რეზისტენტობასთან. სხვა ცხოველებისაგან განსხვავებით ღორში პათოგენეზი განსხვავებულია. ღორის დაუზიანებელ საჭმლის მომნელებელ სისტემაში მოხვედრილი ჯილეხის ბაცილები, ნაწლავებში ბაქტერიოფაგის არსებობის გამო ვერ მრავლდებიან. საჭმლის მომნელებელი ტრაქტის ლორწოვანის უმნიშვნელო დაზიანებისას კი, მიკრობები შეიჭრებიან სისხლის მიმოქცევის სისტემაში, თუმცა სისხლის ბაქტერიოციდული თვისება არ აძლევს მათ გამრავლების საშუალებას და ასრულებს აღმძვრელის გადამტანის ფუნქციას ელენთაში, ძვლის ტვინსა და სხვა ორგანოებში. აქ ბაცილები მრავლდებიან, წარმოქმნიან დამცველ კაფსულას, გამოიმუშავებენ აგრესინებს, რომლებიც ბლოკავენ ლეიკოციტების და რეტიკულო-ენდოთელური სისტემის უჯრედების

ფაგოციტოზის უნარს [Бакулов... 2002]. აღნიშნული გარემოება განაპირობებს Bac. anthracis კაფსულიანი ფორმების შეუფერხებელ გამრავლებას, უპირატესად ძვლის ტვინში, საიდანაც გადადიან სისხლის მიმოქცევის სისტემაში. სისხლში მოხვედრისას აგრესინები ანეიტრალებენ ორგანიზმის დაცვით ძალებს; მიკრობი ინტენსიურად მრავლდება, ცხოველის ორგანიზმის ტემპერატურა სწარაფად მატულობს, სისხლით ბაცილები ვრცელდება ორგანიზმში. მათი დაშლის ტოქსინური პროდუქტები ხვდება თავის ტვინში და აზიანებს მას. აღმძვრელის შეუფერხებელი გამრავლება მცირე დროში იწვევს სეპტიცემიის მძიმე ფორმის განვითარებას, რის შედეგადაც ცხოველი კვდება [ბაბაკიშვილი, 2005], [Бакулов... 2000].

ცხოველის კანის გზით ან მეორადად დასნებოვნებისას წარმოიქმნება კარბუნკულები. კარბუნკულები აღმძვრელის ლოკალიზაციის ადგილას ჰემორაგიული ანთების კერებია. ასეთ კერებში აღმძვრელის გამრავლების პროცესში გამომუშავებული ტოქსინი განაპირობებს ზოგად ინტოქსიკაციას. შემდეგ ბაცილები შეიჭრებიან რეგიონულ ლიმფურ კვანძებში, ვითარდება ჰემორაგიული ლიმფადენიტი. ლიმფური კვანძებიდან ბაცილები გადადიან სისხლში. სეპტიცემიის შედეგად ცხოველი კვდება [Ипатенко, 1984; 2003].

ჯილეხით დახოცილი ცხოველების სისხლი გალაქული ფერისაა და არ დედდება.

ავადმყოფი ცხოველები სიკვდილამდე 10-16 საათით ადრე ჯილეხის აღმძვრელს გამოყოფენ ბუნებრივი ღრუებიდან: ნერწყვთან, შარდთან, ფეკალთან ერთად. ამით ისინი აინფიცირებენ შენობებს, წყალს, ნიადაგს, მოხმარების საგნებს და სხვ.

აღმძვრელის გადაცემის ტრანსმისიული გზის რეალიზაცია ხდება ფეხსახსრიანი გადამტანებით, რომლებიც სისხლის წოვის პროცესში ავადმყოფი ცხოველის სისხლთან ერთად შეიწოვენ ჯილეხის აღმძრელს და გადააქვთ ჯანმრთელი ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმში.

ჯილეხის აღმძვრელის აქტიური გადამტანებია მფრინავი ფეხსახსრიანები: სისხლისმწოველი ბუზები, მოსკიტები, კოღოები, აგრეთვე ტკიპები.

აღნიშნული ადასტურებს ზიმბაბვეში 1979–1980 წწ გარეულ და შინაურ ცხოველებს შორის ჯილეხის ეპიზოოტიას, რამაც გამოიწვია 6000 ადამიანის დაავადება. აღმძვრელის გადამტანი აღმოჩნდა ბუზი-ბზუილა [Черкасский, 2002].

მამაკაცები ქალებთან, ხოლო მოზარდები ბავშვებთან შედარებით უფრო ხშირად ავადდებიან ჯილეხით, რაც ცხოვრების საყოფაცხოვრებო და პროფესიონალური პირობებით აიხსნება.

განასხვავებენ ჯილეხით ადამიანთა დაავადების სამ ტიპს: ა) პროფესიონალურ-სასოფლო-სამეურნეო, ბ) პროფესიონალურ-ინდუსტრიული და გ) საყოფაცხოვრებო.

ადამიანებში ჯილეხის აღმძვრელის ძირითადი შეჭრის ჭიშკარია დაზიანებული კანის (განაკაწრი, ჭრილობები და სხვა) საფარველი.

დაინფიცირება შეიძლება განხორციელდეს სუნთქვის და საჭმლის მომნელებელი სისტემით, მათი მთლიანობის უმნიშვნელო დარღვევის შემთხვევაში.

ჯილეხით ადამიანის დასნებოვნება ძირითადად ხდება დაავადებულ ცხოველებთან, მათ ლეშებთან, ცხოველური წარმოშობის ნედლეულთან, აგრეთე იძულებით დაკლულ ცხოველთან უშუალო შეხებისას, ცხოველის გატყავებისა და გაკვეთისას.

არცთუ იშვიათად, ადამიანის დასნებოვნება ხდება ტყავის, განსაკუთრებით ცხვრის ტყავის, ტრანსპორტირებისას, აგრეთვე ჯილეხის აღმძვრელით დაინფიცირებული ბალნის, მატყლის, რქის, ჩლიქის და ძვლების დამუშავებისას.

1.3 ჯილეხის ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა და Bacillus–ის გვარში შემავალი სახეობების იდენტიფიცირება

ჯილეხზე დიაგნოზი ისმება ეპიზოოტოლოგიური მონაცემების, კლინიკური სურათის, ცხოველის სიკვდილის შემდეგ განვითარებული ცვლილებების გათვალისწინებით, რასაც პასუხი საბოლოოდ ბაქტერიოლოგიურმა გამოკვლევამ უნდა გასცეს.

ადამიანებში ჯილეხის კანის ფორმის დროს ლაბორატორიაში გამოსაკ-ვლევად აგზავნიან პუსტულების ან ვეზიკულების შიგთავსს, კარბუნკულიდან ან წყლულიდან აღებულ გამონადენს; ჯილეხის ფილტვის ფორმის დროს იკვლევენ ნახველს; ნაწლავის ფორმისას განავალს; სეპტიკურ ფორმაზე ეჭვის მიტანის შემთხვევაში ან ორგანიზმის ტემპერატურის აწევისას – სისხლს.

ცხოველებში ლეშის გაკვეთის ან ტან-ხორცის დამუშავების პროცესში ჯილეხზე ეჭვის მიტანის შემთხვევაში, სამუშაოს უპირობოდ წყვეტენ და ლაბორატორიაში გამოსაკვლევად აგზავნიან ელენთის ნაწილს ან ლიმფურ კვანძებს. ლაბორატორიაში სისხლიდან დაცლილი ყურის გადაგზავნის შემთხვევაში ამ უკანასკნელს პრეციპიტაციის რეაქციით იკვლევენ [Ахмедов... 1980].

ლეშის გახრწნისას ვეტერინარიულ ლაბორატორიაში უნდა გაიგზავნოს ტყავის (10X10 სმ) ნაჭრები. მიღებული მასალიდან დამზადებულ ექსტრატს იკვლევენ პრეციპიტაციის რეაქციით [Шляхов, 1967].

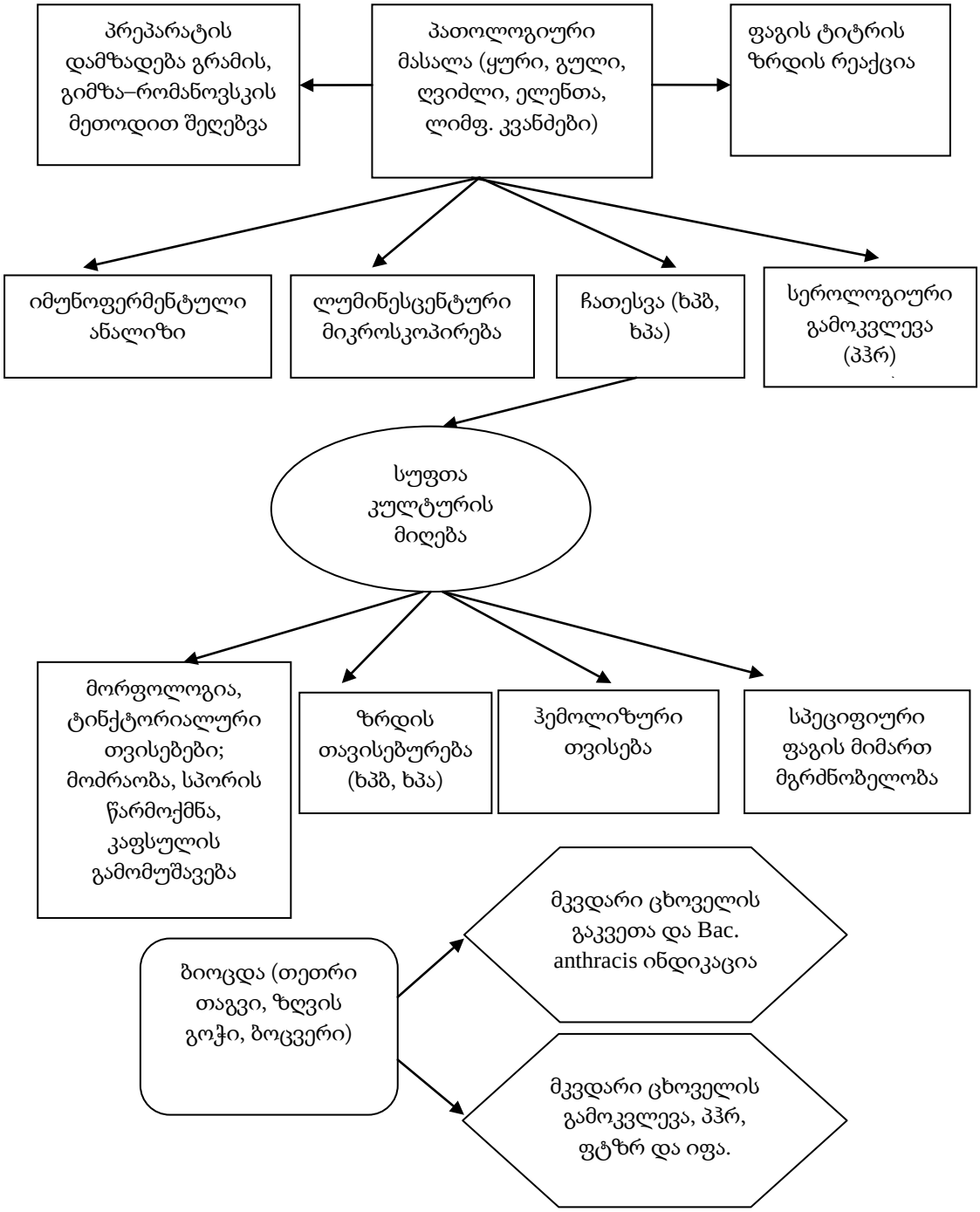
ღორის ლეშიდან გამოსაკვლევად იღებენ შეშუპებული ქსოვილის ნაჭრებს, ხახის უკანა, ყბის ქვეშა და ჯორჯლის ლიმფურ კვანძებს. ბეწვიანი ნადირის ლეში მთლიანად იგზავნება [Ипатенко, 1987].

ჯილეხზე გამოკვლევას ექვემდებარება აგრეთვე ნიადაგის სინჯები, ტყავ-ბეწვეული და სხვა. მკვდარი ცხოველის, ნიადაგის და ტყავ-ბეწვეულის გამოკვლევისას ხელმძღვანელობენ სქემით (1).

ჯილეხის ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა კომპლექსურია, რომელიც ხორციელდება შემდეგი ეტაპებით: ნაცხების მიკროსკოპირება, სუფთა კულტურების გამოყოფა და შესწავლა, სეროლოგიური გამოკვლევა, ბიოცდა ლაბორატორიულ ცხოველებზე, იმუნოფერმენტული ანალიზი, იმუნო-ფლუორესცენცია, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია, [Байрак, 1980, Watt, 1980].

სქემა 1

ჯილეხით დახოცილი ცხოველების ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის სქემა



- **პჰრ**-პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია
- **ფტზრ**-ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია
- **იფა**-იმუნოფერმენტული ანალიზი

ბაქტერიოსკოპია. პათოლოგიური მასალიდან ამზადებენ ნაცხებს, ღებავენ გრამის წესით და სინჯავენ მიკროსკოპში. ჯილეხის მნიშვნელოვანი სადიაგნოსტიკო ნიშანია მორფოლოგიურად ტიპური, კაფსულიანი ჩხირების აღმოჩენა [Ипатенко, 2000]. ჯილეხის აღმძვრელის აღმოსაჩენად წარმატებით გამოიყენება ლუმინესცენტური მიკროსკოპირება. ამჟამად გამოშვებულია უჯრედის და კაფსულის აღმომჩენი ფლუორებადი ანტისხეულები [Бакулов, 1971].

კულტურის გამოყოფა.

სუფთა კულტურის გამოსაყოფად გამოსაკვლევ მასალას თესავენ ხორც-პეპტონიან ბულიონში. ზრდის, მორფოლოგიური, ბიოქიმიური თვისებების თავისებურებებით ახდენენ კულტურების იდენტიფიკაციას მორფოლოგიურად მსგავს მიკრობებთან.

საწყის მასალას თესავენ ჩვეულებრივ საკვებ არეებსა და ელექტურ პლეტაგარზე. კულტივირებას ახდენენ თერმოსტატში 37^0C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში [Ипатенко... 1996]. საკვებ არეებში ზრდის თავისებურებით საზღვრავენ მის ტიპურობას, ამზადებენ პრეპარატს და იკვლევენ მიკროსკოპში [Ипатенко, 1984].

ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევების სრულყოფაში მნიშვნელოვანია ნიადაგიდან სუსპენზიის დასამზადებლად ნატრიუმის პიროფოსფატის 0.5% ხსნარის გამოყენება, რომელიც საუკეთესო დისპერსიული არეა და თითქმის 10-ჯერ ზრდის Bac.anthracis კოლონიების გამოვლენის შესაძლებლობას, სუსპენზირებისათვის გამხსნელად გამოხდილი წყლის გამოყენებასთან შედარებით [Завирюха... 1980].

ბაქტერიოლოგიური მეთოდი.

ჯილეხის სადაიაგნოსტიკოდ მრავალი ათეული წლის განმავლობაში გამოიყენება ბაქტერიოლოგიური მეთოდი, რომლის ჩატარებაც მოითხოვს დიდ დროს – 3-10 დღეს, რაც მნიშვნელოვნად აფერხებს ჯილეხის საწინააღმდეგო დროული მკურნალობის დაწყებას.

სეროლოგიური დიაგნოსტიკა.

ჯილეხის სადიაგნოსტიკოდ ყოველდღიურ ვეტერინარულ ლაბორატორიულ პრაქტიკაში გამოიყენება ასკოლის ანუ პრეციპიტაციის რეაქცია. ასკოლის რეაქცია სწრაფი და მარტივი მეთოდია [Радчук, 1991].

რეაქცია გამოიყენება ცხოველების შინაგანი ორგანოებიდან დამზადებულ ექსტრაქტებში, ტყავში, მატყლში ანტიგენის აღმოსაჩენად, აგრეთვე მზა პროდუქციის – ქურქის, ბეწვიანი საყელოების ჯილეხის აღმძვრელზე შესამოწმებლად.

უსაფრთხოების მიზნით, გამოსაკვლევად აღებულ სინჯებს, რეაქციის დადგმის წინ უვნებელყოფენ ავტოკლავში.

ბოლო პერიოდში მნიშვნელოვანი სიახლეებია არსებული მეთოდების გამოყენებაში, რაც ამაღლებს მათ ხარისხს. შემუშავებულია ექსპრესდიაგნოსტიკის მეთოდები, რომლებიც უმოკლეს დროში, რამდენიმე საათში დიაგნოზის დასმის საშუალებას იძლევა [Кириллов... 2004].

ჯილეხის დიაგნოსტიკის უახლესი მეთოდებიდან პრაქტიკული თვალსაზრისით მნიშვნელოვანია: რესტრიქციული ანალიზი, მოლეკულური ჰიბრიდიზაცია, გენური დაქტილოსკოპია, იმუნო-ფლუორესცენცია და პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია (პჰრ), [Бакулов... 2001].

იმუნოფლუორესცენცია.

ინფექციური დაავადების დიაგნოსტიკისათვის მედიცინასა და ვეტერინარიაში წარმატებით გამოიყენება იმუნოფლუორესცენციის რეაქცია, რომელიც სწრაფი და ხშირ შემთხვევაში სპეციფიკურია. მისი დახმარებით შესაძლებელია მიკრობის აღმოჩენა [Архипов, 1968].

იმუნოფლუორესცენციას საფუძვლად უდევს რეაქცია ანტიგენსა და ანტისხეულებს შორის. იმუნურ შრატს წინასწარ ამუშავებენ ფლუოროქრომით და უერთებენ ანტიგენს. ულტრაიისფერი სხივების ზემოქმედებით წარმოქმნილი კომპლექსი ხდება ხილული.

ფლუორებადი ანტისხეულების მომზადება მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: იმუნური შრატის მიღებას და გამა-გლობულინური ფრაქციის გამოყოფას, გამა-გლობულინის კონიუგირებას ფლუოროქრომით, კონიუგატის გაწმენდას ზედმეტი საღებავისაგან და სპეციფიკურობაზე შემოწმებას.

Bac. anthracis არსებობის შემთხვევაში ლუმინესცენტურ მიკროსკოპში მოჩანს ჩხირებისაგან შემდგარი ძეწკვები, რომლებიც იძლევა მომწვანო ფერის ფლუორესცენციას.

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია.

Bac. anthracis და ნიადაგში ბინადარი საპროფიტების იდენტიფიკაციის საიმედო მეთოდია პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (პჯრ) [Фазанов... 1995; Derzelle... 2013; Rahman... 2014]; ხოლო ჯილეხის აღმძვრელის გენო-ანალიზისათვის პოტენციალმეტრული სენსორის მეთოდი [Гамулин, 1996], აგრეთვე პჯრ და იმუნურ-მაგნიტური სორბციის კომბინირებული გამოყენება. ეს უკანასკნელი აღმძვრელის გამოყოფის ადრეულ ეტაპზე უცხო მიკრობებისაგან განთავისუფლების საშუალებას იძლევა [Егоров... 2006].

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია.

ჯილეხის დიაგნოსტიკის თანამედროვე ექსპრეს მეთოდებიდან განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს სამედიცინო პრაქტიკაში აპრობირებული პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია (პჰრ) [Каральник, 1976]. რეაქციისათვის შემუშავებულია ანტიგენური და ანტისხეულური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმები, რაც ავადმყოფებში აღმძვრელის და მისი ჰომოლოგიური ანტისხეულების, ხოლო ნიადაგსა და გარემოს სხვა ობიექტებში Bac. anthracis ვეგეტატიური და სპოროვანი ფორმების ($2X10^5$- $5X10^5$) აღმოჩენის საშუალებას იძლევა [Солодинива... 1974]. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით ჯილეხზე დიაგნოზის დასმა 3 საათში ხორციელდება [Георгадзе... 1972; Георгадзе... 1974; Георгадзе... 1986; Бакулов, 1988; Ригвава, 2004; Ригвава... 2010].

ფაგოდიაგნოსტიკა.

ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია (ფტზრ) პათოლოგიურ მასალასა და გარემოს ობიექტებში Bac. anthracis ინდიკაციის ხელმისაწვდომი, სპეციფიკური და მაღალმგრძნობიარე მეთოდია [Русалев, 1991; ნათიძე... 2001]. სპეციფიკური B. anthracis ფაგებით შესაძლებელია განხორციელდეს ჯილეხის აღმძვრელის დიფერენცირება მონათესავე საპროფიტი მიკროორგანიზმებისაგან [Павлова... 1974; Георгадзе... 1984].

აღნიშნული ფაგები გამოირჩევიან მოქმედების ფართე დიაპაზონით; ლიზირებული შტამების რიცხვი 90-100%-ია [Левина... 1967; Мещеряков, 1968; Павлова... 1974; Шуляк, 1981; Русалев, 1990; 1991; Ипатенко, 2002; ნათიძე, 1989; ნათიძე... 2010; ნათიძე... 2001; ნათიძე, 2010].

ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქცია დიაგნოსტიკის სწრაფი მეთოდია, სუფთა კულტურის გამოყოფის გარეშე (Натидзе М.М 1989). გამოსაკვლევ მასალაში აღმძვრელის არსებობაზე მსჯელობენ ინდიკატორული ფაგის ტიტრის მატებით, რომელიც გარკვეული რაოდენობით ემატება გამოსაკვლევ მასალას [Роньжина, 1959; Георгадзе... 1983].

ალერგიული დიაგნოსტიკა, კანის სინჯი.

გამოიყენება ადამიანებში ჯილეხის ახალი შემთხვევების დასადგენად. ეპიდემიოლოგიური გამოკვლევების ჩასატარებლად ალერგენი (ანტრაქსინი) 0,1 მლ მოცულობით შეყავთ კანში.

ანტრაქსინის პრაქტიკულმა გამოყენებამ ცხადყო მისი უპირატესობა კვლევის სხვა მეთოდებთან შედარებით [Шляхов... 1968]. ჯილეხის კანის ფორმით 482 დაავადებულთა გამოკვლევისას, ანტრაქსინის გამოყენებით დადებითი შედეგი დაფიქსირდა 90% შემთხვევაში, პარალელური ბაქტერიო-ლოგიური გამოკვლევებით მხოლოდ 34,7%-ში. ანტრაქსინით შესაძლებელია სასოფლო-სამეურნეო ცხოველებში სპეციფიკური პოსტვაქცინური სენსიბი-ლიზაციის დადგენა. აღნიშნული მეთოდი უპირატესად მსხვილფეხა პირუტყვსა და ცხვარში გამოიყენება [Ипатенко, 2000].

ჯილეხის ბაცილის იდენტიფიკაცია.

ბუნებაში გავრცელებულია ჯილეხის აღმძვრელის მსგავსი აერობი-საპროფიტი მიკროორგანიზმები (Bac.cereus, Bac.mycoides, Bac. megatherium; Bac.subtilis, Bac.mesentericus). მათ მსგავსი აქვთ მორფოლოგიური, კულტურალური და სხვა ნიშან-თვისებები [Кузмин, 1968].

მიკრობების იდენტიფიკაცია ხორციელდება მთელი რიგი თავისებურებების გათვალისწინებით: კაფსულის წარმოქმნა, „მარგალიტისებრი“ ყელსაბამის ფენომენი, პათოგენობა და სხვა. ასე მაგალითად, ჯილეხის აღმძვრელი პათოგენურია ლაბორატორიული ცხოველებისათვის. სხვა საპროფიტი მიკროორგანიზმები არ იწვევენ ლაბორატორიული ცხოველების სიკვდილს, გამონაკლისია მხოლოდ Bac.cereus, რომელიც დიდი დოზებით კლავს თეთრ თაგვს. კაფსულას წარმოქმნის მხოლოდ Bac. anthracis [Шляхов... 1967].

მიჩნეულია, რომ მიკრობთა დიფერენცირების მრავალი მეთოდებიდან ყველაზე ეფექტურია კაფსულის წარმოქმნა. „მარგალიტისებრი ყელსაბამის“ რეაქცია და ბაქტერიოფაგით ლიზისი. მიუხედავად სადიფერენციო მეთოდების სიუხვისა, აუცილებელია მათი გამოყენება სხვა ბაქტერიოლოგიურ მეთოდებთან კომპლექსში, ვინაიდან ბუნებაში არსებული ჯილეხის შტამები გამოირჩევიან გარკვეული გადახრებით. ასე მაგალითად, ჯილეხის აღმძვრელის შესწავლილი 176 შტამიდან 3-ს სუსტად ჰქონდა გამოხატული „მარგალიტის ყელსაბამის“ ფენომენი, ხოლო 4–მა არასრულად განიცადა ლიზისი, Y და Fah ფაგებით [Ипатенко... 1995].

ბიოცდა.

ბიოცდის დასადგმელად გამოიყენება თეთრი თაგვი, ზღვის გოჭი და ბოცვერი. დათესვის პარალელურად გამოსაკვლევი მასალით ასნებოვნებენ თეთრ თაგვს ზურგის მიდამოში, კანქვეშ. დოზა – 0,1-0,2 მლ, ზღვის გოჭებსა და ბოცვრებს ასნებოვნებენ მუცლის მიდამოში, დოზა – 0,2-0,5 მლ. თეთრი თაგვი კვდება 1-2 დღეში, ზღვის გოჭი და ბოცვერი 2–4 დღეში. ცხოველებს აკვირდებიან 10 დღე. მკვდარი ცხოველებიდან იკვლევენ ღვიძლს, ელენთას,

ლიმფურ კვანძებს, თირკმელებს, გულიდან აღებულ სისხლს, მასალის შეყვანის ადგილს. ამ მიზნით ამოთესვას ახდენენ საკვებ არეებზე.

1.4 პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია (პჰრ) ინფექციურ დაავადებათა დიაგნოსტიკის ექსპრესმეთოდი

პასიური ანუ არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქციით მედიცინასა და ვეტერინარიაში დაიწყო ახალი ეტაპი, რომლის მიზანია ინფექციურ დაავადებაზე დროის მცირე მონაკვეთში დიაგნოზის დასმა.

მაღალმა მგრძნობელობამ, სპეციფიკურობამ და შედეგების სწრაფმა მიღებამ განაპირობა პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის ფართო მასშტაბით გამოყენება ბაქტერიოლოგიაში, ვირუსოლოგიაში და მიკრობიოლოგიის სხვა დარგებში.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციასთან დაკავშირებულია თანამედროვე ბიოლოგიისა და იმუნოლოგიის აქტუალური თეორიული და პრაქტიკული საკითხების გადაწყვეტა [Авророва... 1996].

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის საფუძველია სპეციფიკურ ინგრედიენტებს (ანტიგენი+ანტისხეული) შორის მიმდინარე ურთიერთქმედება. რეაქციაში მონაწილე ერითროციტების მემბრანის რეცეპტორებთან დაკავში-რებული ერთ-ერთი კომპონენტი (ანტიგენი ან ანტისხეული) უცილობლად ცნობილი უნდა იყოს. რეაქციაში მონაწილე კომპონენტების ჰომოლოგიურობის შემთხვევაში შეწებებული ერითროციტების ხვედრითი მასა მატულობს და სპეციფიკური ნალექის ფორმით გამოიყოფა [რიგვავა... 2000].

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის გამოყენება საჭიროებს ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემების მიღებას, რასაც თავის მხრივ განაპირობებს ერითროციტების სტაბილურობა; ანტიგენისა და ანტისხეულების აქტიური კომპონენტების მიღება; სენსიბილიზაციისათვის საჭირო პირობები და სხვა.

ერითროციტების სენსიბილიზაციისათვის გამოყენებულ ანტიგენსა და ანტისხეულებს სენსიტინი ეწოდება, რომლის მახასიათებლებიც დეტალურად აღწერილია [Каральник, 1976] სახელმძღვანელოში.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის მგრძნობელობა უშუალოდ დაკავშირებულია ერითროციტების სახეობაზე; ზოგიერთი მათგანი პრაქტიკულად გამოუსადეგარია დიაგნოსტიკუმის დასამზადებლად. ასე მაგალითად, ანტიგენის ოპტიმალური დოზით „დატვირთული“ ხარის ერითროციტები ცუდად განიცდიან აგლუტინაციას ჰომოლოგიური შრატით და შესაბამისად რეაქციის ეფექტურობა დაბალია [ნათიძე... 2010].

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის სპეციფიკურობაზე გავლენას ახდენს გამოსაკვლევი სისხლის შრატში ერითროციტების კომპლემენტური ანტი-სხეულების არსებობა [Дегтяренко... 1990]. ასე მაგალითად, უმეტესი ადამიანების სისხლის შრატში აღმოჩენილია ყოჩის ერითროციტების შესაბამისი ანტისხეულები (ტიტრი 1:2-1:32). მისი დაბალი ტიტრი გავლენას ახდენს პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის სპეციფიკურობაზე, რადგანაც დადებითი შედეგები კანონზომიერად აღინიშნება გამოსაკვლევი შრატის მაღალ განზავებაში [Георгадзе... 1972].

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის სპეციფიკურობას მნიშვნელოვნად უზრუნველყოფს ერითროციტების ბუნება და დამუშავების პირობები. კერძოდ გრიპის ვირუსის ინდიკაციისათვის რეკომენდირებულია ცხენის ერითროციტების გამოყენება, ვინაიდან ეს უკანასკნელი არ შეიცავს ვირუსის ჰემაგლუტინინის შესაბამის რეცეპტორებს.

ერითროციტების სტანდარტულობის და სტაბილურობის განმსაზღვრელი ფაქტორია მისი დამუშავების სრულყოფა. ეს მოვლენა პრაქტიკულად განსაზღვრავს სპეციფიკური აგლუტინაციის დროს, სენსიტინის გავლენით ერითროციტების შეწებებას, სპონტანური აგლუტინაციის გამორიცხვის ფონზე [Натидзе... 1980].

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის შემუშავების საწყის ეტაპზე დიაგნოსტიკუმების დასამზადებლად გამოიყენებოდა ნატივური არასენსიბილი-ზებული ერითროციტები. ამჟამად ეს მეთოდი იშვიათად გამოიყენება და გზა დაუთმო სტაბილური ერითროციტების ბაზაზე დამზადებულ დიაგნოსტიკუმებს. ერითროციტების კონსერვაციის მეთოდები ერთმანეთისაგან მნიშვნელოვნად

განსხვავდებიან, საფიქსაციოდ გამოყენებული ნივთიერებების და ერითროციტების დამუშავების პირობებით. ერითროციტების დასაფიქსირებლად უპირატესად ფორმალდეჰიდი, აცეტალდეჰიდი და სხვა ნივთიერებები გამოიყენება. ამჟამად შემოთავაზებულია ერითროციტების ფორმალინიზაციის 30-ზე მეტი ვარიანტი [Шамардин, 1981]. ერითროციტების სტაბილურობისათვის ფორმალდეჰიდის ოპტიმალური კონცენტრაცია 0,5%-9%-ია.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში მრავალი წლის განმავლობაში ფორმალინიზირებული ერითროციტების გამოყენება და დაგროვილი ფაქტობრივი მასალა ცხადყოფს მის უპირატესობას [Каральник, 1976].

ფორმალინიზირებული ერითროციტების სტაბილურობას მნიშვნელოვნად ამაღლებს ლიოფილური შრობა. მის საპირისპიროდ გაყინვა და ბაქტერიებით დაბინძურება ერითროციტებს უვარგისს ხდის პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში გამოსაყენებლად [Ригвава... 2004].

ერითროციტული დიაგნოსტიკუმების დასამზადებლად გარკვეული მნიშვნელობა ენიჭება ტანინით არასპეციფიკურ სენსიბილიზაციას.

მეცნიერთა გამოკვლევებით ერითროციტების ოპტიმალური კონცენტრაცია 2-3%-ია, ხოლო ტანინის 0,001-0,005% [Daniel... 1963].

ერითროციტული დიაგნოსტიკუმების დამზადების დამამთავრებელი ეტაპია ტანიზირებული ერითროციტების სენსიბილიზაცია („დატვირთვა“) მიკროორგანიზმების სპეციფიკური ანტიგენით, მათ შორის ხსნადი ანტიგენით, აგრეთვე მათი ცხოველმყოფელობის პროდუქტებით – ტოქსინებით (ანატოქსინით). ერითროციტების სენსიბილიზაციას აწარმოებენ აგრეთვე სპეციფიკური ანტისხეულებით (იმუნოგლობულინით) საკვლევ ობიექტში (შრატი, ფიზიოლოგიური ხსნარი) ანტიგენის აღმოსაჩენად. ერითროციტების სენსიბილიზაციისათვის აუცილებელია გარკვეული პირობების დაცვა: ინკუბაცია 37˚C-ზე, ექსპოზიცია 30 წუთი, ერითროციტების 2,5 %-იანი შენაწონი, ანტიგენის და იმუნოგლობულინის სათანადო კონცენტრაცია და pH- 6,4 [Шамардин.... 1980].

იმუნოგლობულინით ერითროციტების სენსიბილიზაციის პროცესში გასათვალისწინებელია იონური ძალებისა და pH-ის გავლენა. შავი ჭირისა და ქოლერის საწინააღმდეგო გლობულინებით ერითროციტების დატვირთვის პროცესში pH-ისა და იონური ძალების კომბინირებულად გამოყენების 12 სხვადასხვა ვარიანტიდან ყველაზე ხელსაყრელია pH-ის ოთხი (5,6; 6,4; 7,2; 7,8) და იონური ძალების სამი ვარიანტი. ანტიგენებით სენსიბილიზირებისათვის ოპტიმალური pH=6,4-7,2–ია [ნათიძე...2010; Георгадзе... 1974].

იმუნოგლობულინით ერითროციტების სენსიბილიზაციის პროცესში გადამწყვეტია სენსიტინის განთავისუფლება პასიური ცილებისაგან (ბუბაშვილი მ., და თანაავტ., 2000), ელექტროფორეზის მეთოდით შრატების შესწავლისას დადგენილია, რომ მისი ყველა ფრაქცია არ არის აქტიური ანუ ანტიბაქტერიული და ანტიტოქსიური თვისების მტარებელი. სპეციფიური ანტისხეულები დაკავშირებულია ნატივური და ჰიპერიმუნური შრატების ცილების უმნიშვნელო რაოდენობასთან. მათი უმეტესი ნაწილი ბალასტური ცილებია [Ларский, 1990; Раихер... 1983].

არაიმუნური ცილების მოსაცილებლად და იმუნოგენურის კონცენ-ტრირებისათვის შემუშავებულია ფიზიკური და ქიმიური მეთოდები. ფიზიკური მეთოდებიდან წარმატებით გამოიყენება გაყინვა [Роньжина, 1959].

პრაქტიკული თვალსაზრისით ფართო გავრცელება პოვა ანტისხეულების სხვადასხვა მარილებით ფრაქციებად დაყოფამ. ანტიტოქსიური ცილების დასალექად წარმატებით გამოიყენებოდა გოგირდმჟავა ამონიუმი, ალუმინის სულფატი და სხვა [Вашков... 1946; Nansen, 1948].

თურქულის, ღორის ვეზიკულური დაავადების კომერციული ანტიგენების და კონცენტრირებული ვირუსის გასაწმენდად წარმატებით არის გამოყენებული ქლორის მჟავა. მიღებული და დამზადებულია აქტიური და მაღალსპეციფიკური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმები, ანუ გამომარილებით მიღებული გლობუ-ლინების შემდგომი ელექტროდიალიზი. დასკვნით ეტაპზე დალექილი იზოლაბილური ეუგლობულინის დაცილება იზოსტაბილურისაგან ცენტრი-ფუგირებით ხორციელდება [ნათიძე... 1994].

შრატების გასაწმენდად და კონცენტრირებისათვის გარკვეულ ინტერესს იწვევს ნეიტრალური მარილების და ფენოლის 2%-იანი ხსნარის კომბინირებული გამოყენება.

შრატების ცალკეული ფრაქციების მისაღებად განსაკუთრებით გავრცელდა ეთანოლური მეთოდი. ეთილის სპირტით, დაბალ ტემპერეტურაზე მიღებულია ბიოლოგიურად აქტიური ფრაქციები [Cohn... 1946]; [Савельева... 1983]; [Георгадзе ... 1986].

პლაზმისა და შრატის ცილების ფრაქციებად დაყოფის მრავალი მეთოდია შემოთავაზებული, რომლებსაც საფუძვლად უდევს კონის პრინციპი, მათ შორის შრატების სპირტით ფრაქციებად დაყოფა, რომელიც რამდენადმე რთულია და დაკავშირებულია იმუნური ცილების დანაკარგებთან [Холчев... 1947].

ამჟამად შრატიდან და პლაზმიდან სპეციფიკური გლობულინების მისაღებად უპირატესად ეთანოლით დაბალ ტემპერატურაზე დამუშავების მეთოდი გამოიყენება. ამ გზით მიღებული პრეპარატები აღჭურვილია ანტიკომპლემენტარობით [Cohn, 1951].

მიუხედავად დიაგნოსტიკის უახლესი მეთოდების არსებობისა, ინტერესი პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის მიმართ არ შენელებულა და ფართოდ გამოიყენება მედიცინის, ვეტერინარიისა და ბიოლოგიის თეორიული და პრაქტიკული საკითხების გადასაწყვეტად. აღნიშნულის დამადასტურებელია პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის დანერგვა სამედიცინო პრაქტიკაში დიზენტერიის [Абалакин, 1990], [Суслова... 1985]; სალმონელოზის [Leinonen, 1985]; [Смирнова, 1986]; ეშერიხიოზის; ქოლერის; ბრუცელოზის [Иванова... 1980]; Сомов... 1988]; ყივანახველის [А. Д. Курицева, 1966); ტულარემიის; დიზენტერიის და გაშეშების [Славина... 1974]; [Савранская... 1981]; [Коникова, 1961]; [Соловьев, 1973]; ჭირის [Канатов... 1985]; რიკეტსიოზების [Дайтер... 1978]; სხვადასხვა ვირუსულ დაავადებათა [Закирова... 1986]; [Любашевская... 1985]; [Майзегайер... 1986]; სოკოვანი [Храпова... 1974] და სასოფლო-სამეურნეო ცხოველების ვეზიკულური დაავადებების [Кочергина, 1991] სადიაგნოსტიკოდ. აგრეთვე ვაქცინების, შრატების და სხვა პრეპარატების შესამოწმებლად [Георгадзе...

1979]; ვეტერინარიაში ერთ-ერთ პროგრესულ მიმართულებად უნდა ჩაითვალოს O-დიაგნოსტიკუმების გამოყენებით E. coli საწინააღმდეგო ანტისხეულების აღმოჩენის შესაძლებლობა ძროხის რძეში [Хоменко... 1978].

მნიშვნელოვანი გამოკვლევებია ჩატარებული მედიცინაში. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია გამოყენებულია სტაფილოკოკური ეტიოლოგიის ინფექციური დაავადებების სადიაგნოსტიკოდ [Станцева... 2001]. მიღებულია მაღალმგრძნობიარე ანტიგენური და ანტისხეულური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმები. ანტიგენური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი 1 მლ-ში, $2,5X10^4$ მიკრობული უჯრედის აღმოჩენის შესაძლებლობას იძლევა, რაც 100-ჯერ აღემატება არსებული კვლევის მეთოდების მაჩვენებლებს. მსგავსი მაღალმგრძნობიარობა დამახასიათებელია სტაფილოკოკური ანტისხეულური დიაგნოსტიკუმისათვის. ამ უკანასკნელის გამოყენებით აღმოჩენილი α სტაფილოლიზინის რაოდენობა $5X10^4$ მკგ/მლ-ია [Ригвава, 1999]; [Ригвава... 2001].

ანტიგენური სტაფილოკოკური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი წარმატებით გამოიყენება ცხენების ჰიპერიმუნიზაციის პროცესში გამომუ-შავებული ანტისტაფილოკოკური ანტისხეულების ტიტრის დასადგენად [Ригвава... 2001].

სარწმუნო შედეგებია მიღებული ტუბერკულოზის სადიაგნოსტიკოდ პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის გამოყენებაზე. აღნიშნული რეაქცია სპეციფიკური ანტისხეულების აღმოჩენით სხვადასხვა სახეობის მიკობაქტერიის დადგენის საშუალებას იძლევა. ტუბერკულოზზე არაკეთილსაიმედო მეურნეობაში საკონტროლო-სადიაგნოსტიკო მიზნით დაკლულ მსხვილფეხა პირუტყვში, 87,5% შემთხვევაში პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით დადასტურდა დადებითი შედეგები [Куратинов, 1991].

ცალკეულ პუბლიკაციებში აღწერილია პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის შედარებით დაბალი მრძნობელობა იმუნოფერმენტულ ანალიზთან შედარებით. ვირუსულ დიარეაზე მსხვილფეხა პირუტყვის და ცხვრის გამოკვლევით დადგენილია, რომ იმუნოფერმენტული ანალიზი პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციასთან შედარებით 18,1%-ით მეტ შემთხვევაში

დადებითად მორეაგირეების გამოვლინების საშუალებას იძლევა [Красочко, 1991].

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია ვეტერინარიაში წარმატებით გამოიყენება მსხვილფეხა პირუტყვში ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ. დაავადებულ ცხოველებში აღნიშნული რეაქციით შესაძლებელია ჰემაგლუტი–ნინების აღმოჩენა სისხლის შრატსა და რძეში 2 საათის განმავლობაში. რძის 1379 ნიმუშზე ჩატარებული გამოკვლევებით პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია აღმოჩნდა გაცილებით მგრძნობიარე რძის რგოლურ რეაქციასთან შედარებით [Дегтяренко... 1990].

ბრუცელოზის სადიაგნოსტიკოდ განსაკუთრებით მაღალმგრძნობიარეა RS ანტიგენზე დამზადებული ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი. მისი გამოყენებით შესაძლებელი გახდა ბრუცელოზზე არაკეთილსაიმედო მეურნეობაში მსხვილფეხა პირუტყვის სისხლის შრატში ბრუცელოზის საწინააღმდეგო ანტისხეულების აღმოჩენა. ამავე მიზნით სტანდარტული მეთოდებით მიღებული შედეგები უარყოფითი აღმოჩნდა.

ვეტერინარიასა და მედიცინაში პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციას უდავო აღიარება მოუტანა ჯილეხის სადიაგნოსტიკოდ გამოყენებამ. ანტი-სხეულური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმის ეფექტურობა 32-ჯერ აღემატება დიაგნოსტიკის არსებული მეთოდების მაჩვენებლებს. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით აღმოჩენილი სპორების მინიმალური რაოდენობა 6.103/ მლ-ია, ხოლო ვეგეტატიური ფორმების 1,2.104/მლ. [Натидзе... 1986]; [Ригвава... 1988]; [Ригвава, 1999].

წარმატებით არის გამოცდილი ჯილეხის ანტიგენური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი „სტი“, „ი-17“ და „55“ ვაქცინებით იმუნიზირებულ ცხოველებში იმუნიტეტის შესაფასებლად [Натидзе... 1996] და ჯილეხის საწინააღმდეგო იმუნოგლობულინში სპეციფიკური ანტისხეულების ტიტრის დასადგენად [Георгадзе... 1972, 1974]; [ნათიძე... 2000]; [რიგვავა... 2000].

პერსპექტიულად უნდა ჩაითვალოს პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის გამოყენება პასტერელოზის სადიაგნოსტიკოდ; მიღებულია სპეციფიკური სენსიტინი, ერითროციტების სენსიბილიზაციისათვის და ანტიგენური

დიაგნოსტიკუმის დასამზადებლად (Станцева А. Я. с соавт. 2001). ლიტერატურაში აღწერილია სარწმუნო მონაცემები ინდაურების მიკოპლაზმოზის [Оганесян, 1987] და მსხვილფეხა პირუტყვის ადენოვირუსული დაავადებების სადიაგნოსტიკოდ პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის გამოყენებაზე [Корольков... 1979].

წარმატებით არის გამოცდილი ანტიგენური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი ლეპტოსპირებით, ძაღლების დაინფიცირების დასადგენად [Мельницкая... 1990].

ყურადღებას იმსახურებს [Буренкова, 1960] მიერ დამზადებული ლისტერიოზული ანტიგენური დიაგნოსტიკუმი და [Карпов, 1960] ლისტერიების საწინააღმდეგო ანტისხეულების ტიტრის დასადგენად გამოყენებული პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია.

ბაქტერიული ვირუსების ბიოლოგიური ნიშან-თვისებების შესასწავლად, განსაკუთრებით ანტიფაგური ბუნების დასადგენად, ახალი მიმართულებაა ფაგისა და ანტიფაგური შრატების ტიტრის განსაზღვრა პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით [Георгадзе... 1983]; [Шуляк, 1981]; შემუშავებულია T2, T4 და მუცლის ტიფის ანტიფაგური შრატების ტიტრის დასადგენად ერითროციტული ანტიგენური (ფაგური) და ანტისხეულური (ანტიფაგური შრატი) ერითროციტული დიაგნოსტიკუმები. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით და სტანდარტული აპელმანის მეთოდით მიღებული ტიტრები თანხვდენილია [Георгадзе... 1984]; [Натидзе... 1989].

მიღებული მასალის სტატისტიკურ დამუშავებას ვაწარმოებდით საშუალო არითმეტიკული სიდიდის (M) გაანგარიშებით:

კვადრატული ცდომილების:

$$\sigma = \frac{\pm\sqrt{\sum a^2}}{n-1}$$

სადაც, $\sum\alpha^2$ – განსაზღვრული სიდიდის კვადრატული გადახრის ჯამი,

n–ცდის რაოდენობა,

საშუალო არითმეტიკული საშუალო ცდომილება: $m = \pm\frac{\sigma}{n}$

არსებითი განსხვავების მაჩვენებლები $t = \frac{M1-M2}{M1^2+M2^2}$

მიღებული სიდიდისა და დაკვირვებათა რიცხვის საფუძველზე $/n1 + n2/ -/2/$ სტიუდენტის ცხრილის მიხედვით ისაზღვრებოდა განსხვავებათა ალბათობა „P“. სარწმუნოდ ითვლება განსხვავება, როდესაც $P \leq 0,05$.

2.0 საკუთარი გამოკვლევები

სადისერტაციო თემით გათვალისწინებული სამუშაოები ჩატარდა 2000-2011 წლებში საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის ინფექციურ და ინვაზიურ სნეულებათა დეპარტამენტში, თბილისის გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის იმუნოლოგიის ლაბორატორიასა და შპს „იმუნოგენში“.

2.1 გამოკვლევის მასალა და მეთოდები

გამოსაკვლევი მასალა.

ცდების ჩატარების პროცესში გამოვიკვლიეთ ნიადაგის 191, მდინარის 19 და ტყავ–ნედლეულის 130 ნიმუშები და მიკროორგანიზმთა კულტურები: Bac. cereus, Bac. subtilis, Bac. megatherium, Bac.anthracoides, Bac. mycoides, Bac. mesentericus, ჯილეხის სავაქცინე ,,სტი'' და $34F_2$; შემუშავებული ტესტ–სისტემის შესამოწმებლად ცდებში გამოვიყენეთ 18–20 გ. ცოცხალი მასის მქონე 10 თეთრი თაგვი.

საკვები არეები.

ბაქტერიოლგიური გამოკვლევებისათვის გამოვიყენეთ: სოიოს ბულიონი (pH 7.2-7.4), სოიოს აგარი (pH 7.2-7.4), ბრეინჰარტის ბულიონი (pH 7.2-7.4), ბრეინჰარტის აგარი (pH 7.2-7.4), ნახევრადთხევადი (0,4%-იანი) აგარი, სისხლიანი აგარი, რძე, ხორც-პეპტონიანი ჟელატინა, შაქრების ფერადი რიგი (გლუკოზა, ფრუქტოზა, რამნოზა, საქაროზა და დექსტრინი).

საპრეციპიტაციო შრატები.

ექსპერიმენტებში გამოყენებულ იქნა ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატები დამზადებული უკრაინასა (სერია №2 2008,“Херсонская биофабрика“) და რუსეთის ფედერაციაში (სერია №74, ФГУП "Орловская биофабрика" , 2009 და სერია №67, 2010 ФГУП " Орловская биофабрика ").

ანტიბიოტიკები.

მიკრობთა ანტიბიოტიკომგრძნობელობის დასადგენად ცდებში გამოვიყენეთ კომერციული დოქსაციკლინის, პენიცილინის, პოლიმიქსინის, ტრიმეტოპრიმის და სულფანილამიდური პრეპარატის -სულფადიმეზინის და ბაქტრიმ-ფორტეს ქაღალდის დისკოები (მწარმოებელი: Benex Limited,Shannon, County. USA)

ბაქტერიოფაგი.

ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარში შემავალ მიკრობთა სახეობების ფაგომგრძნობელობა მოვახდინეთ კომერციული, სპეციფიკური ჯილეხის „ გამა“ და Fah სადიაგნოსტიკო ფაგებით.

მეთოდები

კულტურების შესწავლა მოიცავდა მორფოლოგიური, კულტურალური, ბიოქიმიური თვისებების დადგენას, ანტიბიოტიკო და ფაგომგრძნობელობის განსაზღვრას.

მორფოლოგიური ნიშან-თვისებების შესწავლა. ბაცილების გვარში შემავალი მიკრობების ტიპურობის დასადგენად, მორფოლოგიური და ტინქტორიალური თვისებების განსაზღვრის მიზნით, ნაცხებს ვღებავდით გრამის წესით, რომანოვსკი-გიმზას /კაფსულა/ და ცილ-ნილსენის (სპორა) მეთოდებით. მოძრაობის დასადგენად გამოვიყენეთ 0.3-0.4%-იან აგარის გელში დიფუზიის მეთოდი.

გრამის წესით შეღებვა. ფიქსირებულ ნაცხს ვაფარებდით ფილტრის ქაღალდს და ვასხამდით გენციანვიოლეტს ან მეთილვიოლეტს. შეღებვის ხანგრძლივობა 2-3 წთ.

2. ფილტრის ქაღალდს ვაცილებდით, ნაცხზე ვაწვეთებდით ლუგოლის ხსნარს; ვაჩერებდით 1-2 წუთის განმავლობაში. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ ვახდენდით სასაგნე მინიდან ხსნარის გადაღვრას.

3. პრეპარატს 20 წამის განმავლობაში ვაუფერულებდით 96%-იანი სპირტით.

4. ნაცხს ჩავრეცხავდით გამოხდილი წყლით.

5. პრეპარატს 2 წუთის განმავლობაში დამატებით ვღებავდით ფეიფერის ფუქსინით.

6. პრეპარატს კვლავ ჩავრეცხავდით გამოხდილი წყლით. ვაშრობდით და ვიკვლევდით მიკროსკოპში იმერსიული სისტემით.

გიმზა-რომანოვსკი მეთოდი. ნაცხს 10 წუთის განმავლობაში ვაფიქსირებდით 96%-იანი სპირტით ან სპირტ-ეთერის ხსნარით. ნაცხებს ვღებავდით განზავებული გიმზა-რომანოვსკის საღებავით. შეღებვის ხანგრძლივობა 20-30 წუთია. ნაცხს სწრაფად ჩავრეცხავდით წყლით, ვამშრალებდით და ვსინჯავდით მიკროსკოპში.

სპორების შეღებვა ცილ-ნილსენის მეთოდი. ფიქსირებულ ნაცხს ვაფარებდით ფილტრის ქაღალდს. ნაცხზე ვაწვეთებდით კარბოლიან ფუქსინს. ვაცხელებდით სპირტქურის ალზე, ორთქლის გამოყოფამდე 5 წუთის განმავლობაში (საღებავის პერიოდული დაწვეთებით). ფილტრის ქაღალდს ვაცილებდით. ნაცხს 5-10 წამის განმავლობაში ვაუფერულებდით H_2SO_4-ის 5-10%-იანი ხსნარით. სწრაფად ჩავრეცხავდით გამოხდილი წყლით. პრეპარატს ვამუშავებდით 96%-იანი ეთილის სპირტით 10-15 წამის განმავლობაში. პრეპარატს ჩავრეცხავდით გამოხდილი წყლით და დამატებით ვღებავდით მეთილენის ლურჯით 2-3 წუთის განმავლობაში. პრეპარატს განმეორებით ჩავრეცხავდით გამოხდილი წყლით, ვამშრალებდით და ვსინჯავდით მიკროსკოპში.

მიკრობთა მოძრაობის დადგენა. მიკროორგანიზმთა მოძრაობის დასადგენად გამოვიყენეთ მიკრობთა ნახევრად თხევად აგარში კულტივირების მეთოდი. სვეტისებრ 0,3-0,4%-იან აგარის გელში ვახდენდით კულტურების

ჩათესვას ჩხვლეტით. ნათესებს ვათავსებდით თერმოსტატში 37^0 C. 18-24 საათის შემდეგ აღვრიცხავდით შედეგებს.

კულტურალურ–ბიოქიმიური თვისებები.

ჯილეხის სავაქცინე შტამების და Bacillus გვარის ფერმენტული თვისებების შესწავლა მოიცავდა: ნახშირწყლების ფერმენტაციას; H_2S-ის და NH_3-ის წარმოქმნის დადგენას; ჰემოლიზური, მარგალიტის ყელსაბამის ფენომენის, პროტეოლიზური და რედუქციული თვისებების დადგენას.

***NH_3* გამოყოფა.** ამიაკის განსაზღვრა. სასაგნე მინაზე ვაწვეთებდით შესაბამის მიკრობულ კულტურას და ვუმატებდით თითო-თითო წვეთ ნელსერის რეაქტივს. მათი შერევის შემდეგ აღვრიცხავდით შედეგებს. ამიაკის არსებობის შემთხვევაში წვეთი იძენდა ყვითელ შეფერილობას.

გოგირდწყალბადის *(H_2S)* განსაზღვრა. საკვებ არეში გოგირდ-წყალბადის წარმოქმნის დასადგენად მიკროორგანიზმთა გამოსაკვლევ კულტურას ვთესავდით ბულიონში. საცობსა და სინჯარის კედელს შორის 0%-იან ძმარმჟავა ტყვიაში დასველებულ ფილტრის ქაღალდის ზონრის მოთავსებით. შედეგებს აღვრიცხავდით თერმოსტატში 37^0C--ზე ინკუბაციიდან 18-24 საათის შემდეგ. გოგირდწყალბადის წარმოქმნის შემთხვევაში ფილტრის ქაღალდი იძენდა შავ ფერს (სურ. 7, 8 იხილეთ გვ. 128).

ნახშირწყლების ფერმენტაცია. ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარში შემავალი მიკრობების საქაროლიზური თვისებები შევისწავლეთ კულტურათა ჩათესვით ჰისის საკვებ არეში და შემდგომი კულტივირებით 37^0C--ზე 24 საათის განმავლობაში.

ჰისის საკვები არე: პეპტონიან წყალს (100 მლ გამოხდილი წყალი, 0,5% NaCl და 1% პეპტონი), ვუმატებდით 0,5% ნახშირწყალს და 0,5% ანდრედეს ინდიკატორს. ჩვეულებრივად ვამზადებდით საკვებ არეებს სხვადასხვა ნახშირწყლით (ფერადი რიგი). ანდრედეს ინდიკატორის კომპონენტებია: 0,5 გ მჟავა ფუქსინი, 16 მლ 4%-იანი ნატრიუმის ტუტე და 100 მლ გამოხდილი წყალი. საკვებ არეებს ჩამოვასხამდით ტივტივებიან სინჯარებში (ტივტივას ყრუ ბოლო საცობისკენ არის მიმართული). ვასტერილებდით გამდინარე ორთქლით,

წყვეტილად. ფერმენტული აქტივობის დასადგენად „ფერად რიგში“ ჩავთესავდით მიკროორგანიზმთა 18-20 საათიან კულტურას. 37^0C-ზე თერმოსტატირებიდან 18-20 საათის შემდეგ აღვრიცხავდით შედეგებს.

ანტიბიოტიკო და ფაგომგრძნობელობა

ანტიბიოტიკომგრძნობელობის შესწავლის მიზნით 20 მლ მოცულობით პეტრის ფინჯნებში ჩამოსხმული მყარი საკვები არის ზედაპირზე შეგვქონდა 1 მლ 18-20 საათიანი ბულიონიანი ან მკვრივი საკვები არედან 18-20 საათიანი კულტურის ჩამონარეცხი. სუსპენზიის სიმკვრივე შეესაბამებოდა №10 სიმღვრივის სტანდარტს.

შენაწონს თანაბრად ვანაწილებდით ფინჯანში. დარჩენილი სითხე პიპეტით, გადაგვქონდა სადეზინფექციო ხსნარში. ფინჯნებს 30-40 წუთს ვაშრობდით ოთახის ტემპერატურაზე, შემდეგ ფინჯნის ზედაპირზე პინცეტით ვათავსებდით ანტიბიოტიკების დისკოებს. ფინჯნების ინკუბაციას ვახდენდით თერმოსტატში, 37^0C–ზე. შედეგების აღვრიცხავდით 18-20 საათის შემდეგ.

მიკრობთა ფაგომგრძნობელობის შესასწავლად გამოვიყენეთ გამა და Fah ფაგები.

პეტრის ფინჯნებში ვახდენდით 20-25 მლ, 1,3-1,5 %-იანი გამღვალი ხპა-ს ჩამოსხმას. ფინჯნებს ვტოვებდით ოთახის ტემპერატურაზე. მეორე დღეს ფინჯნებს ვაშრობდით თერმოსტატში 1-2 საათის განმავლობაში. ფინჯნის ფუძეზე (გარედან) მარკერით ვავლებდით კულტურათა რაოდენობის შესაბამის ჰორიზონტალურ ხაზებს. ერთდროეულად ვავლებდით ფაგების შესაბამისი რაოდენობის ვერტიკალურ ხაზებს. ჩვეულებრივ ვიღებდით გამოსაკვლევ კულტურებს და ამავე რაოდენობის ბაქტერიოფაგს. ფაგომგრძნობელობის დასადგენდად გამოვიყენეთ თერმოსტატში ნაზარდი 18-20 საათიანი ბულიონიანი კულტურები. ბაქტერიული მარყუჟით ჰორიზონტალურად აგარის ზედაპირზე ვავლებდით 5-6 მმ სიგრძის ბაქტერიალურ ზონრებს. გამოშრობისათვის ფინჯნებს 15-20 წთ ვათავსებდით თერმოსტატში.

შემდეგ ზონრებზე შესაბამის სექტორებში პიპეტმანით ვაწვეთებდით 10 მკლ-ის რაოდენობით შესაბამის ფაგებს. ფინჯნებს ვათავსებდით ოთახის

ტემპერატურაზე 20-30 წუთს, შემდეგ ფინჯნები გადაგვქონდა თერმოსტატში 37^0C–ზე და 18-20 წუთის შემდეგ აღვრიცხავდით შედეგებს.

სეროლოგიური რეაქციები

ტყავ-ნედლეულში და ნიადაგის სინჯებში Bac. anthracis ინდიკაციისათვის გამოვიყენეთ ასკოლის (პრეციპიტაციის) და პასიური ჰემაგლუტინაციის (პჰრ) რეაქციები.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია საჭიროებს თანამედროვე ტესტ-სისტემების არსებობას. ეს უკანასკნელი გულისხმობს ორი ძირითადი ინგრედიენტის არსებობას. პირველი – ქიმიურად გაწმენდილ მაღალსპეციფიკურ სენსიტინს – ანტიგენს ან იმუნოგლობულინს (ანტისხეულს) იმისდამიხედვით, თუ რას ვეძებთ გამოსაკვლევ ობიექტში (სისხლის შრატი, ნიადაგი, წყალი და სხვ.) – ანტისხეულებს თუ ანტიგენს.

საკვლევ ობიექტში ჯილეხის აღმძვრელის აღმოსაჩენად გამოიყენება იმუნოგლობულინური ტესტ–სისტემა. იმუნოგლობულინი მიიღება ჯილეხის საწინააღმდეგო ჰიპერიმუნური შრატის ფრაქციონირებით. დიაგნოსტიკუმის მგრძნობელობას სპეციფიკური ანტისხეულების ტიტრი განსაზღვრავს.

საპრეციპიტაციო შრატიდან გლობულინი მიიღება მეთანოლის გამოყენებით. პროცესი მოიცავს შემდეგ ეტაპებს:

3 მოცულობა ფიზიოლოგიური ხსნარი + 1 მოცულობა ფოსფატური ბუფერი pH =7.0 (1/15 Na_2HPO_4 -0.7მლ + KH_2PO_4 -0.3 მლ)

1. 8 მლ იმუნურ შრატზე 4 მლ ბუფერის დამატება (pH =7.2).
2. ნარევის გაცივება 0^0C-ზე და 14 მლ მეთანოლის წყლიანი ხსნარის დამატება (მეთილის სპირტის 6 მოცულობა + 8 მლ ბიდისტილირებული წყალი).
3. შრატის ნარევის გადატანა ცენტრიფუგის სინჯარებში, +4 0^0C წვეთწვეთობით მეთილის სპირიტის წყალხსნარის დამატება. ნარევის დაცენტრიფუგება 3000 ბრ/15 წთ-ის განმავლობაში.

4. ნალექზედა სითხის მოცილება, ნალექის (გლობულინი) გახსნა საწყის მოცულობამდე (8 მლ) NaCL -ის 0,9%-იანი ხსნარით, pH =7.8-7.9 შრატის გადატანა სტერილურ სადიალიზო პარკში. სადიალიზო პარკის მოთავსება NaCl-ის 0,9%-იან ხსნარიან მინის თასში და დატოვება მაცივარში 24 საათის განმავლობაში.

5. 24 საათის გასვლის შემდეგ მაცივრიდან გამოტანა და ფიზიოლოგიური ხსნარის გამოცვლა. სადიალიზო პარკში მოთავსებული გლობულინის დაყოვნება 4 საათის განმავლობაში.

6. გლობულინის გაფილტვრა და ცილის შემცველობის განსაზღვრა.

ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის დასამზადებლად გამოიყენება 2-3 წლის ასაკის ყოჩის ერითროციტების 2.5% -იანი შენაწონი. ცხოველს სისხლს უღებენ საუღლე ვენიდან, მინის ბურთულებიან ჭურჭელში (ფლაკონში), სისხლის შედედების თავიდან ასაცილებლად (შესაძლებელია ასევე სისხლის აღება ანტიკოაგულიანტში – ოლსვერის ხსნარიან ფლაკონში). სისხლს ფილტრავენ დოლბანდის ფილტრში, აცენტრიფუგებენ 1500-2000 ბრ/წთ-ში 10 წუთის განმავლობაში; შემდეგ აცილებენ პლაზმას, ერითროციტების ნალექს აზავებენ NaCl-ის 0,9%-იან ხსნარში. ურევენ გულდასმით და ახდენენ ერითროციტების ჩამორეცხვას 5-6 ჯერ +4° C–ზე.

ნალექზედა სითხეს აცილებენ, საზღვრავენ ერითროციტების მოცულობას. ერითროციტების სტაბილიზაციისათვის ახდენენ მის ფორმალინიზაციას, რომელიც მიმდინარეობს 48 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

ფორმალინიზაციის დროს ხელმძღვანელობენ შემდეგი სქემით:

მაგ: ერითროციტების რაოდენობამ შეადგინა 30 მლ. რომ გავიგოთ რამდენი NaCl-ის ხსნარია საჭირო, მოცემული ციფრი 30 გავამრავლეთ მუდმივ რიცხვზე 7.5 ზე. მივიღეთ:

30X7.5=225 მლ NaCl

შემდეგ ანგარიშობენ ფორმალინის და მისთვის საჭირო NaCl–ის რაოდენობას, ამისათვის NaCl–ის რაოდენობას უმატებენ ნალექის რაოდენობას და ეს რიცხვი იყოფა 2–ზე.

225+30=255 მლ,

255:2=127,5 მლ,

შემდეგ საზღვრავენ 127,5–ის 20 %–იანი ფორმალინის რაოდენობას. ამისათვის ადგენენ პროპორციას

$$\frac{n127,5*2}{100} = 25,5$$ მლ ფორმალინი,

ხოლო NaCl–ის გასაანგარიშებლად 127.5–25.5= 102 მლ. ე.ი 25.5 ფორმალინს ამატებენ 102 მლ NaCl –ს 0,9 %–ანი ხსნარს.

ფორმალინიზირებულ ერითროციტებს ინახავენ მაცივარში. ერთი თვის დაყოვნების შემდეგ შესაძლებელია ერითროციტების გამოყენება დიაგნოსტიკუმის დასამზადებლად.

ფორმალინიზირებულ ერითროციტებს სამჯერ რეცხავენ NaCl-ის 0,9%-იანი ხსნარით (pH=7.0-7.2) დაცენტრიფუგებით. ნალექზედა სითხეს ღვრიან, ნალექს რეცხავენ იმავე ხსნარით და ამზადებენ 2,5 %-იან შენაწონს. 5 მლ ერითროციტების 2,5 %-იან შენაწონს თანაბარი მოცულობით უმატებენ $3X10^4$ განზავებულ ტანინის მჟავას (ტანინის დანიშნულებაა ერითროციტების ადსორბციული თვისებების გაზრდა). ნარევს აყოვნებენ 37^0C –ზე 15-20 წუთის განმავლობაში. შემდეგ რეცხავენ თავდაპირველად 1/15 მოლარული ფოსფატური ბუფერის ხსნარით pH=7.2 2-ჯერ, ხოლო ერთხელ ფოსფატური ბუფერის 1/15 მოლარული ხსნარით pH=6.4. ერითროციტებს სუსპენზიას ამზადებენ ნალექიდან ბუფერულ ხსნარში, რომლის pH=6.4. ტანიზირებული ერიტროციტები გადააქვთ 5 სინჯარაში 5-5 მლ მოცულობით. სინჯარაში ამატებენ გლობულინის საურველი გულდასმით ურევენ, სინჯრებს ათავსებენ თერმოსტატში 4 საათის განმავლობაში. თერმოსტატირების დამთავრებამდე ნახევარი საათით ადრე ამატებენ 0.05 მლ ფორმალინს. თერმოსტატირებიდან 4 საათის შემდეგ ტანიზირებული ერითროციტები გადააქვთ მაცივარში $+4^0C$, 18-20 სათის განმავლობაში. შემდეგ ახდენენ ნალექის ჩამორეხვას 1:100-ზე განზავებული კურდღლის ნორმალური შრატით. განმეორებით აცენტრიფუგებენ. ნალექზედა სითხეს ღვრიან სადეზიფენქციო ხსნარში, ხოლო ნალექს ამატებენ 5 მლ NaCL-ის 0,9%-იან

ხსნარს. რეაქციაში გამოყენებამდე დიაგნოსტიკუმს ინახავენ საყინულეში -20°C–ზე.

პარალელურად ამზადებენ საკონტროლო პრეპარატს ანუ არასენსიბილიზირებულ ერითროციტებს.

ასკოლის ანუ პრეციპიტაციის რეაქცია

დაფენის მეთოდი- სრულიად სუფთა 1 სმ დიამეტრის და 5 სმ სიგრძის საპრეციპიტაციო სინჯარებში პიპეტით შეგვქონდა 0,3-0,5 მლ ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატი და მასზე ვაფენდით 0,3-0,5 მლ გამოსაკვლევ ექსტრაქტს. სითხეების ერთმანეთში შერევის თავიდან ასაცილებლად სინჯარას შრატით რამდენადმე გადავხრიდით და ფრთხილად, კედლის ჩაყოლებით შეგვქონდა გამოსაკვლევი ექსტრაქტი. სწორად ჩატარებული მანიპულაციის დროს ანტიგენის არსებობის შემთხვევაში შრატისა და ანტიგენის შეხების საზღვარზე წარმოიქმნება პრეციპიტატის რკალი.

3.0 ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1. საქართველოში 2001-2015 წწ. ჯილეხით დაავადების დინამიკა

ჯილეხის ეპიდემიოლოგიას საქართველოში თავისებურება ახასიათებს, რასაც ფაქტორთა კომპლექსი განსაზღვრავს. ასეთი ფაქტორებია: კლიმატურ-რელიეფური სპეციფიკა, არაკეთილსაიმედო პუნქტების სიმრავლე, მეცხოველეობის გაძღოლის სისტემა, ცხოველთა სიმჭიდროვე გარკვეულ ტერიტორიაზე, მცოხნავთა უპირატესი ამთვისებლობა, ახლად აღმოცენებული მანიფესტური კერების არსებობა, პროფილაქტიკური აცრების ჩატარება, ავადმყოფი ცხოველის დროული გამოვლენა, მკურნალობის წარმართვა, პრევენციული ღონისძიებები და სხვა.

ჯილეხით ადამიანების დაავადების მიზეზად გვევლინება კონტაქტი არა მარტო დაავადებულ ცხოველებთან და მათ პროდუქტებთან, არამედ კონტამინირებულ ნიადაგთან და გარემო არის სხვა ობიექტებთან. შემთხვევათა უმრავლსეობა ზაფხულ-შემოდგომაზე მოდის. რეგისტრირებულ ავადმყოფთა უმრავლესობა მოზრდილი ასაკისაა (14 წელზე მეტი).

ჩვენს მიერ მოძიებულ მასალაზე დაყრდნობით 2001-2015 წლებში ჯილეხით ადამიანების დაავადების შემთხვევათა რაოდენობამ 812 შეადგინა. ბოლო პერიოდში მოხდა იმ ტერიტორიების ინტენსიური ათვისება, რომლებიც ადრე ცხოველსამარხებს წარმოადგენდა. შემთხვევათა უმრავლესობა გამოწვეულია დაავადებული ცხოველების დაკვლა-გატყავებით და ხორცის ადგილზე დამუშავებით. დაავადების სიხშირით მეორე ადგილზეა კონტამინირებული ნიადაგი. რიგ შემთხვევაში დაავადება დაკავშირებულია შეძენილი ხორცის დამუშავების პროცესთან. ცხადია ყველა შემთხვევაში ინფექციის წყარო დაავადებული ცხოველია და ადამიანთა დაავადება სწორედ ამ ფაქტორს უკავშირდება. განსაკუთრებით საყურადღებოა ის გარემოება, რომ თუნდაც 2002 წელს ოფიციალური მონაცემების მიხედვით ცხოველთა ავადობის მონაცემები საგრძნობლად ჩამორჩება ანალოგიურ მაჩვენებელს ადამიანთა შორის. კერძოდ, 2002 წელს, როდესაც საქართველოში (ქვემო ქართლი, იმერეთი, სამეგრელო) დაავადდა 11 ადამიანი, მთელს ქვეყანაში ცხოველთა ავადობის არც ერთი შემთხვევა არ აღრიცხულა.

ქვეყნის ეკონომიკა და მოსახლეობის საყოფაცხოვრებო პირობებში მომხდარი უარყოფითი ძვრები განაპირობებს, ჯილეხით ავადობის ისეთი შემთხვევების რაოდენობის გარკვეულ მატებას, რომლების Bac. Anthracis–ით კონტამინირებულ ნიადაგთან კონტაქტს უკავშირდება. მის სადემონსტრაციოდ საკმარისია 2001 წელს 9 ადამიანის დაავადება, რაც დაუკავშირდა ჯართის მოპოვების მიზნით მიწის სამუშაოებს.

საქართველოში ადამიანთა ჯილეხით ავადობის ანალიზის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ წლების მიხედვით ავადობის მაჩვენებლების რყევა კანონზომიერ ხასიათას არ ატარებს და ძირითადად უნდა უკავშირდებოდეს ჯილეხის შემთხვევათა სიხშირეს, რაც როგორც უკვე ავღნიშნეთ, სათანადო დონეზე არ რეგისტრირდება.

დაავადების შემთხვევათა უმრავლესობა ე.წ. აქტიურ ასაკზე მოდის (18-60 წელი). ამასთან დაავადების შემთხვევათა სიხშირე მამაკაცებში 2-ჯერ მეტია, ვიდრე ქალებში.

მიუხედავად იმისა, რომ ჯილეხის შემთხვევების სიხშირე საშუალოდ წელიწადში 2-3 ათეულის ფარგლებში მერყეობს, თვით შემთხვევათა პერმანენტულობა საკმაოდ მყარია იმისათვის, რომ ადგილებზე ჯილეხის დიაგნოსტირება ჯეროვნად მიმდინარეობდეს, მაგრამ ფაქტობრივი მასალა ამის მტკიცების საშუალებას არ იძლევა. ჯილეხით გამოწვეული 3 ლეტალური შემთხვევა სწორედ არასწორ დიაგნოსტიკას უკავშირდება, რამაც შეაფერხა ადეკვატური მკურნალობის დროული დაწყება. ერთ შემთხვევაში კი განხორციელდა ქირურგიული ჩარევა (წყლულის გაკვეთა), რამაც თავის მხრივ დაამძიმა დაავადების მიმდინარეობა. უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ შემთხვევათა შედარებითი იშვიათობის გამო ჯილეხის დიაგნოსტირება ერთტიპიურია: ადგილობრივი ჩირქოვან-ანთებითი პროცესი, რასაც მოსდევს ექიმების მიერ დანიშნული ანტიბიოტიკოთერაპია (უპირატესად პენიცილინის ჯგუფის პრეპარატებით), ე.ი. ჯილეხის მკურნალობის ანალოგიური სქემა, რაც შემთხვევათა აბსოლუტურ უმრავლესობაში დადებით შედეგს იძლევა. ასეთ შემთხვევებში ჯილეხის ამოცნობა და რეგისტრირება არ ხდება.

დაავადების რაოდენობის რადიკალურად შეცვლა შინაური ცხოველის ჯილეხით ავადობის მკვეთრი შემცირების გარეშე (ტოტალური ვაქცინაცია) ფაქტიურად შეუძლებელია. არსებითი მნიშვნელობა ენიჭება იმასაც, რომ დღემდე ბოლომდე მოგვარებულად ვერ ჩაითვლება დაავადებული პირუტყვის ლეშის დამარხვის აუცილებელი წესების დაცვა და ცხოველთა სამარხების ჯეროვანი იზოლაცია.

ფაქტიურად არ არსებობს სრულყოფილი მონაცემები ცხოველთა სამარხების განთავსებისა და მათი რაოდენობის შესახებ. ასევე აღსანიშნავია ის გარემოებაც, რომ ყოველწლიურად იზრდება არაკეთილსაიმედო კერების რიცხვი, რაც გამოწვეულია ავადმყოფი საქონლის თვითნებურად დაკვლით. შეიქმნა საფრთხე ნიადაგური კერების „გამორეცხვის“ და მიმდებარე ტერიტორიების ჯილეხის გამომწვევით კონტამინაციისა. ეს გარემოება უკავშირდება უხვნალექიანობას და ჯილეხის სპორების „სუფთა“ ტერიტორიაზე განფენას, რომლის რისკი საკმაოდ მაღალია და ნიადაგური კერების დეკონტამინაციის ეფექტური მეთოდების დღემდე არ არსებობის გამო ჯილეხის პროგნოზირება საკმაოდ რთულია.

დაავადების გავრცელებაზე კონტროლის დამყარება მნიშვნელოვან წილად იქნება დამოკიდებული პროფილური კვლევის მიკრობიოლოგიური ნაწილის სათანადო დონის უზრუნველყოფაზე. მხოლოდ ამ პირობით შეიძლება გადაწყდეს ის მოუგვარებელი პრობლემები, რომლებიც ჯერ კიდევ აღინიშნება ჯილეხის ლაბორატორიულ დიაგნოსტიკასა და ეპიდემიოლოგიურ ზედამხედველობაში.

2000-2011 წწ. ჯილეხით დაავადებული ცხოველების რაოდენობამ 108 სული შეადგინა ყველა შემთხვევაში ლეტალური გამოსავლით. ცალკეული სახეობის სასოფლო–სამეურნეო ცხოველების ჯილეხით დაავადების შემთხვევები შემდეგი სტატისტიკით არის წარმოდგენილი: 99 სული მსხვილფეხა პირუტყვი, 7 ცხვარი და თხა, 1 ცხენი და 1 ღორი. (ცხრილი 1) (დიაგრამა 1).

ცხრილი 1

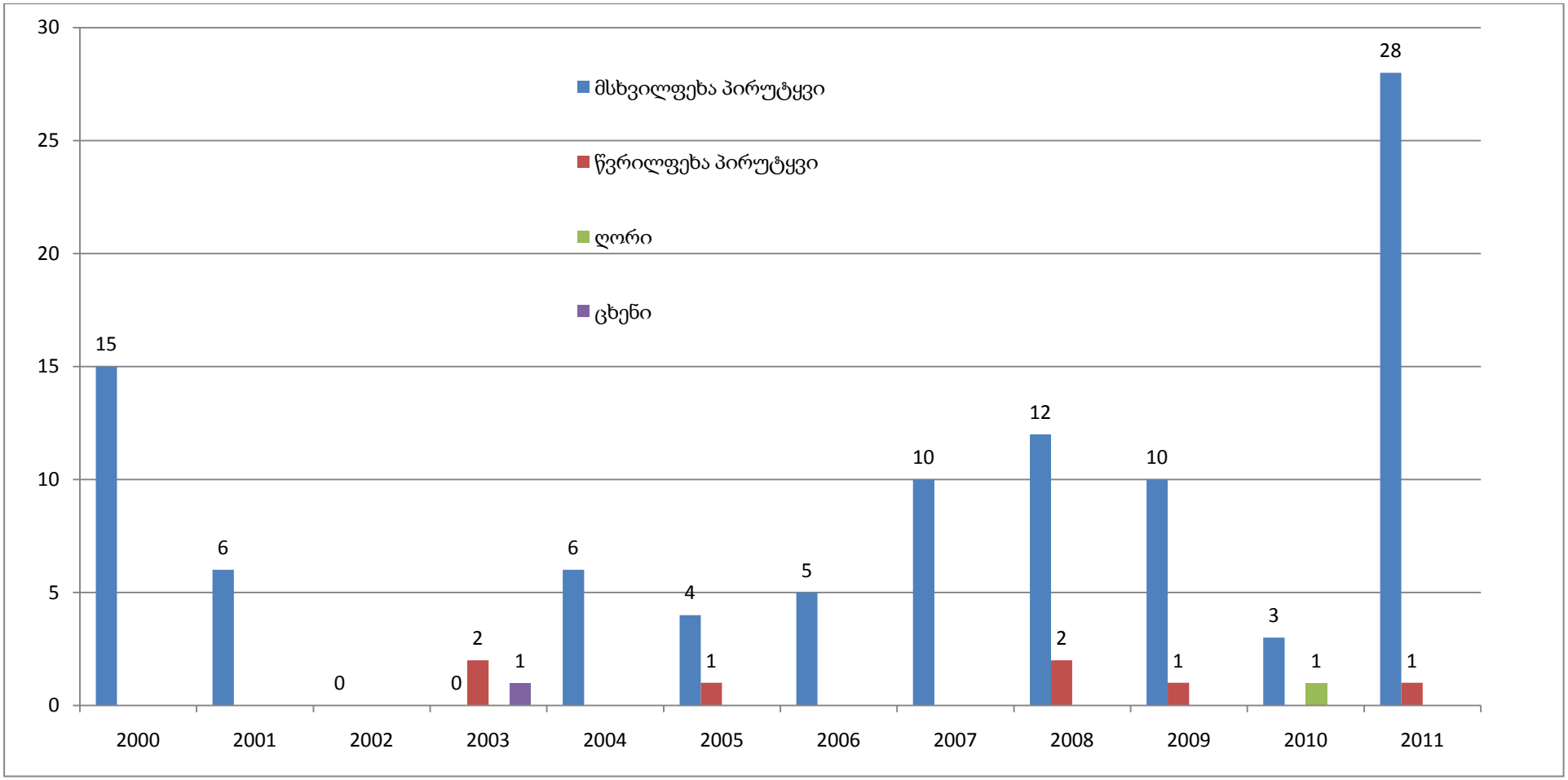
საქართველოში 2000-2011 ჯილეხით დაავადებული სასოფლო – სამეურნეო ცხოველების დინამიკა

№	წელი	მსხვილფეხა პირუტყვი	წვრილრქიანი პირუტყვი	ღორი	ცხენი
1	2000	15/15*	-	-	-
2	2001	6/6	-	-	-
3	2002	-	-	-	-
4	2003	-	2	-	1/1
5	2004	6/6	-	-	-
6	2005	4/4	1/1	-	-
7	2006	5/5	-	-	-
8	2007	10/10			
9	2008	12/12	2/2		
10	2009	10/10	1/1	-	-
11	2010	3/3	-	-	-
12	2011	28/28	1/1	1/1	-
	სულ 108	99/99	7/7	1	1/1

შენიშვნა*: 15/15, 15 შემთხვევიდან მოკვდა 15.

დიაგრამა 1

სასოფლო-სამეურნეო ცხოველების ჯილეხით დაავადების მაჩვენებლები



როგორც ცხრილიდან ჩანს, ჯილეხის გავრცელების მაქსიმალური რაოდენობა დაფიქსირდა 2011 წელს – 28, 2000 წელს –15, 2008 წელს –12 შემთხვევა.

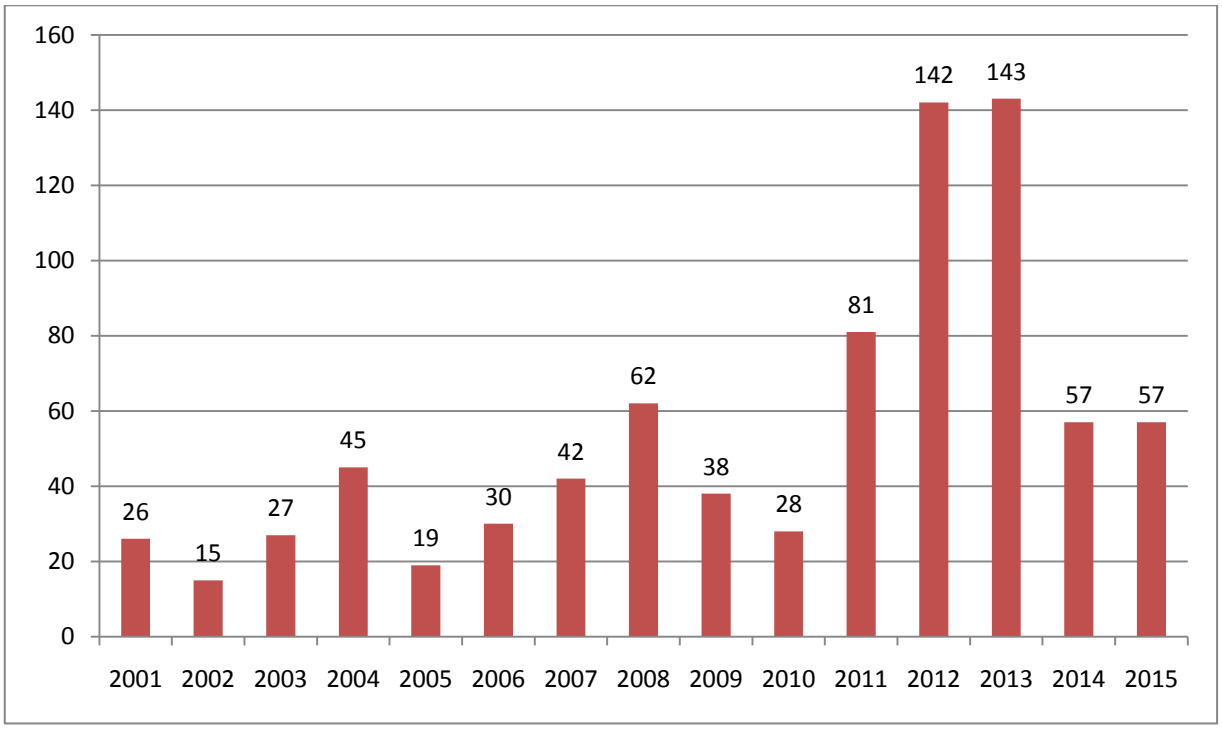
ჯილეხის კეთილსაიმედობის თვალსაზრისით გამონაკლისია 2002 წწ. აღნიშნულ პერიოდში სასოფლო-სამეურნეო ცხოველების დაავადების შემთხვევა არ არის რეგისტრირებული.

ჩვენს მიერ მოძიებულ მასალაზე დაყრდნობით 2001-2015 წლებში ჯილეხით ადამიანების დაავადების შემთხვევათა რაოდენობამ 812 შეადგინა (დიაგრამა 2,3).

დიაგრამა 2

ადამიანებში ჯილეხის შემთხვევათა კვლევის დინამიკა

2001 – 2015 წლებში



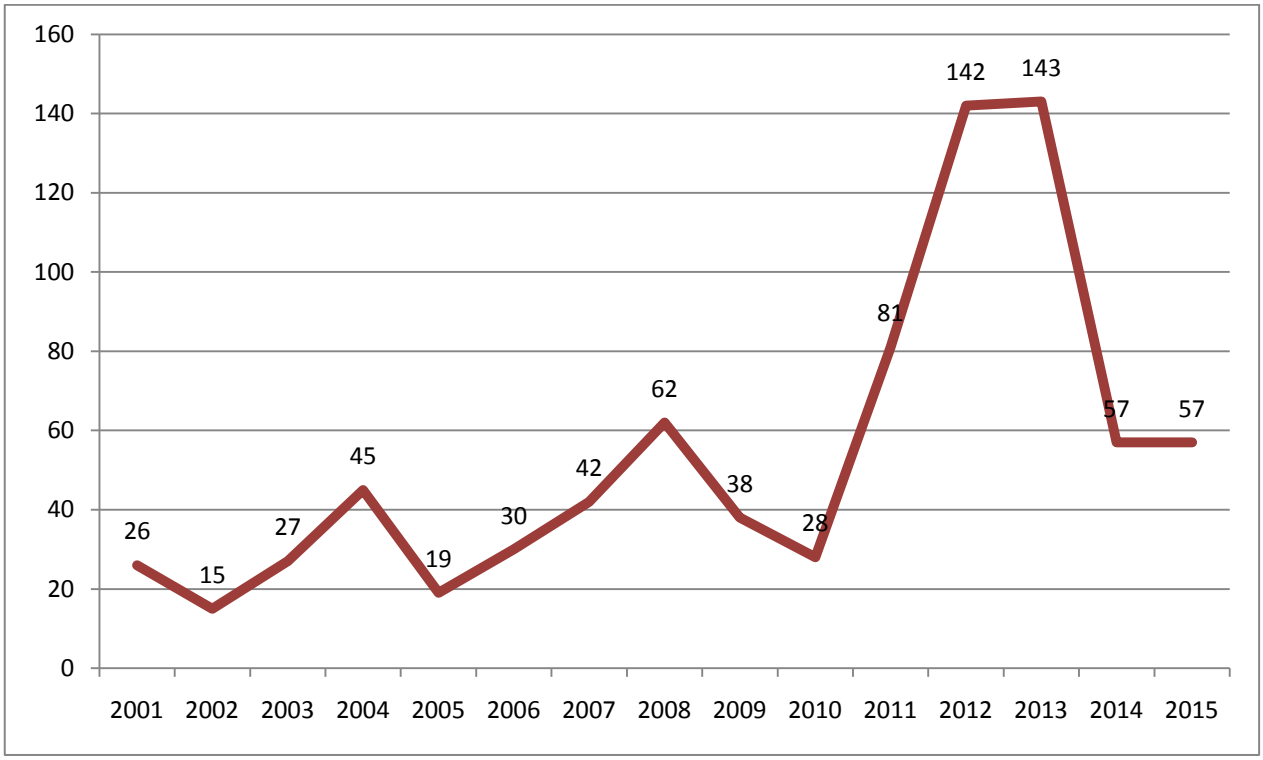
შენიშვნა: ორდინატა-შემთხვევათა რაოდენობა,

აბცისა- დაავადების შემთხვევები წლების მიხედვით.

დიაგრამა 3

ადამიანებში ჯილეხის შემთხვევათა დინამიკა

2001-2015წწ



შენიშვნა: ორდინატა-შემთხვევათა რაოდენობა

აბცისა-დაავადების შემთხვევები წლების მიხედვით

როგორც დიაგრამიდან ჩანს 2001-2015 წლებში ჯილეხით ადამიანთა დაავადების 812 შემთხვევიდან, დაავადების მაჩვენებელი განსაკუთრებით მაღალია 2012-20013 წლებში (142-143 შემთხვევა), ხოლო 2002-2005 წლებში შემთხვევათა მინიმალური რაოდენობაა აღრიცხული (15-19 შემთხვევა).

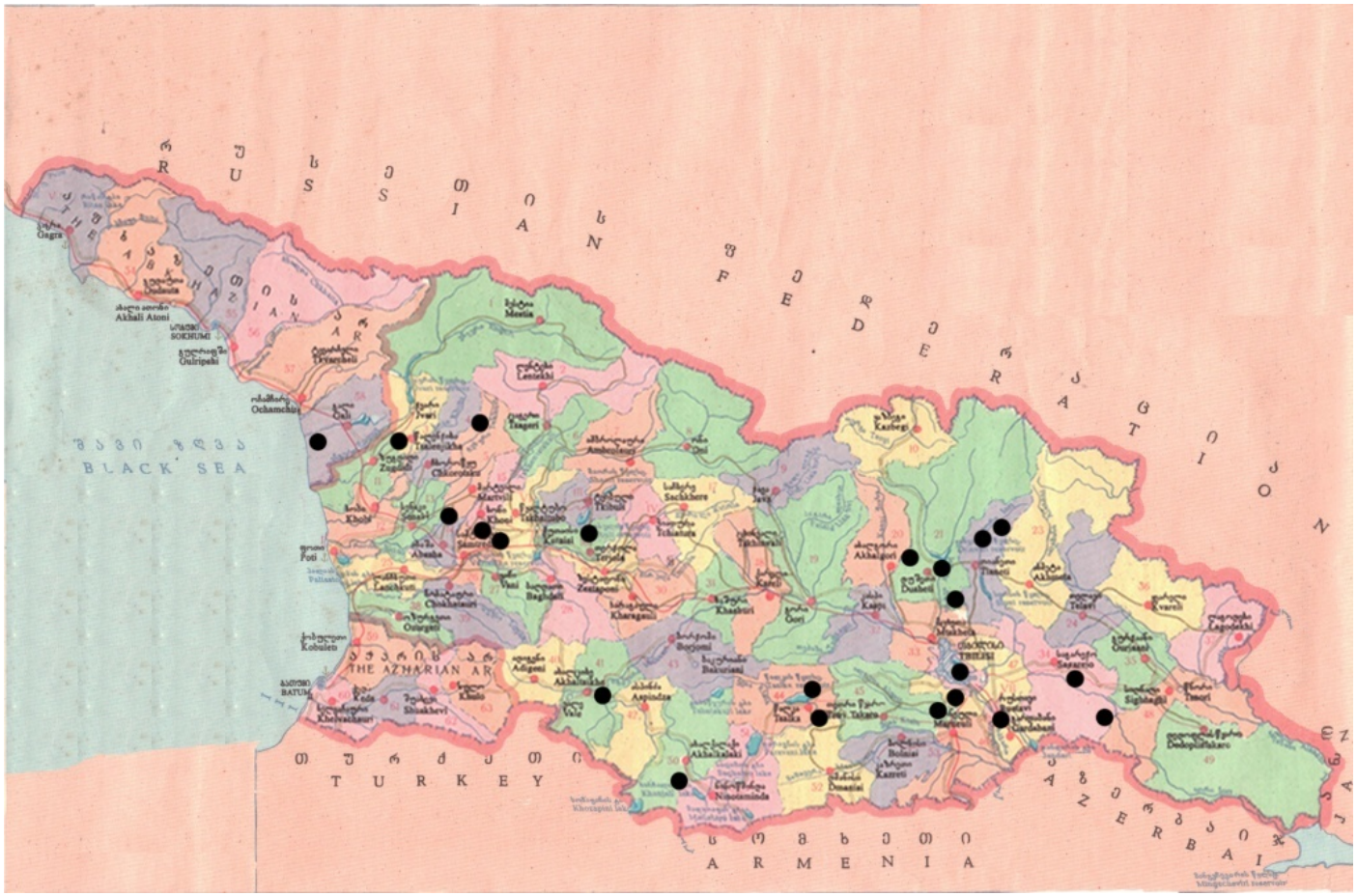
როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ჯილეხის გავრცელებას სეზონურობა ახასიათებს და სასოფლო-სამეურნეო ცხოველების დაავადების უმეტესობა ზაფხულსა და შემოდგომაზე მოდის. განსაკუთრებით ცხელი და მშრალი კლიმატის პირობებში, ბალახის დაბალი ზრდის გამო მატულობს ცხოველის ნიადაგთან პირით შეხება, ცხოველი ფესვებიანად გლეჯს და ყლაპავს მცენარეს, რომელიც შესაძლოა დაინფიცირებული იყოს ჯილეხის აღმძვრელის სპორებით, განსაკუთრებით არაკეთილსაიმედო კერებში.

ჯილეხის გავრცელების არეალი საქართველოში განსხვავებულია. არაკეთილსაიმედო კერების უმეტესობა განლაგებულია ბარში, ხოლო მცირე ნაწილი მაღალმთიან ზონაში.

საქართველოში ეპიზოოტოლოგიური სიტუაციის თვალსაზრისით მნიშვნელოვანია ჯილეხის ძველი და ახალი მანიფესტური, არაკეთილსაიმედო კერების არსებობა. თ. კუხალაშვილის (1971; 2006) აღწერით საქართველოში არსებული 1642 არაკეთილსაიმედო კერიდან, ამჟამად უმეტესობა მიეკუთვნება ძველ (პასიურ) პუნქტებს, ე.ი. პუნქტებს, სადაც ჯილეხის შემთხვევები არ დაფიქსირებულა ათეულობით წლებისა და მეტი ხნის განმავლობაში. ახალი მანისფესტური პუნქტებიდან ყურადსაღებია რეციდივული პუნქტები, ანუ ტერიტორიები, სადაც ბოლო ხუთი წლის განმავლობაში ჯილეხი არ დაფიქსირებულა. ასეთი პუნქტების რაოდენობა 41-ს შეადგენს. აქედან 18 აღმოსავლეთ საქართველოში, ხოლო 23 დასავლეთ საქართველოშია.

რუკა 1

საქართველოში ჯილეხის ახლადაღმოცენებული კერები



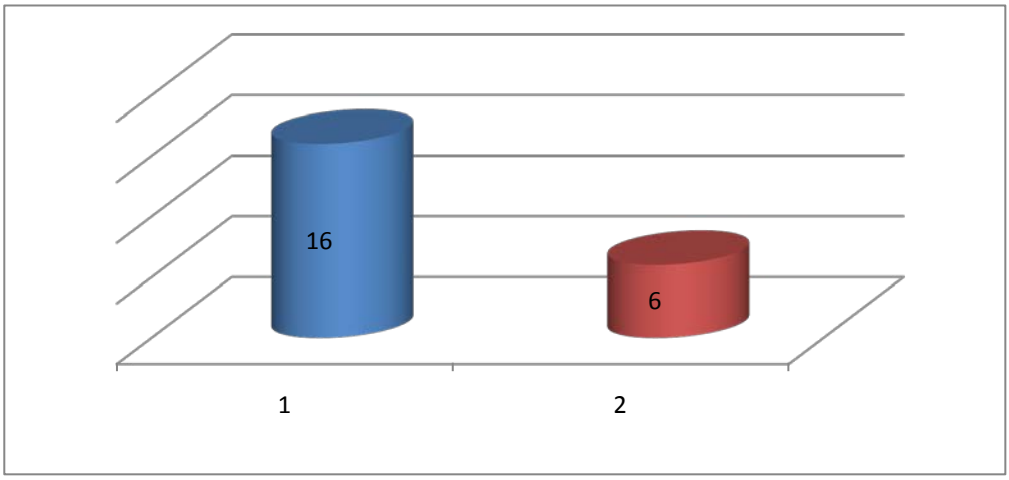
შენიშვნა*:

• – რუკაზე აღნიშნული წერტილი -ახლადაღმოცენებული კერა.

ჯილეხის ეპიზოოტოლოგიაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა ახლად აღმოცენებულ მანიფესტურ კერებს ენიჭება. ჩვენს მიერ მოძიებულ მასალაზე დაყრდნობით, საქართველოში ახლადაღმოცენებული კერების რაოდენობა ანუ კერების, რომლებიც საერთოდ არ ყოფილა აღწერილი, 22-ია (რუკა 1) ახლადაღმოცენებული კერების უმეტესობა აღმოსავლეთ საქართველოზე მოდის (16), შედარებით ნაკლები დასავლეთ საქართველოზე (6) (დიაგრამა 3). არაკეთილსაიმედო რაიონებს მიეკუთვნება: ახალქალაქის, ბოლნისის, გარდაბნის, გალის, დუშეთის, ზუგდიდის, თეთრიწყაროს, თიანეთის, მარნეულის, ნინოწმინდის, საგარეჯოს, სამტრედიის, ყაზბეგის, ცაგერის, წალკის და წყალტუბოს რაიონები.

დიაგრამა 4

ჯილეხის ახლადაღმოცენებული მანიფესტური კერები



შენიშვნა

1 დასავლეთ საქართველო

2 აღმოსავლეთ საქართველო

ცნობილია, რომ ჯილეხის აღმძვრელის განვითარებაზე გავლენას ახდენს რიგი ფაქტორები, მათ შორის მნიშვნელოვანია წყალბადიონთა კონცენტრაცია (pH). ამ მიზნით, კვლევის პროცესში მოვახდინეთ გამოსაკვლევი წყლის და ნიადაგის ნიმუშების pH-ის განსაზღვრა.

კვლევის შედეგების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ აღმოსავლეთ საქართველოში არაკეთილსაიმედო პუნქტების სიმრავლეს დასავლეთ საქართველოსთან შედარებით განაპირობებს მეცხოველეობის განვითარება, ჰუმუსით მდიდარი ნიადაგების არსებობა და ნიადაგის სუსტი ტუტე რეაქცია, რომელიც ჩვენს მიერ შესწავლილ გარდაბნის, ქარელის, ახალციხის და სხვა რაიონებში pH–7.6–8.6 ფარგლებშია და წარმოადგენს მიკრობის ხანგრძლივად ვეგეტირებისა და შესაბამისად პერსისტენციის ხელშემწყობ პირობას (იხილეთ ცხრილი 2-3).

ცხრილი 2

ჯილეხზე გამოსაკვლევი მდინარეთა წყლების წყალბადიონთა კონცენტრაციის (pH) მაჩვენებელი

#	მდინარეთა სახელწოდება	pH
1	აბაშის წყალი	7,2
2	ალაზანი	7,2
3	ალგეთი	8,4
4	არაგვი	8,35
5	აღმოსავლეთი ფრონე	8,3
6	დასავლეთი ფრონე	8,3
7	იორი	8,45
8	ლიახვი	7,2
9	ლოჭინი	8,3
10	მეჯუდა	7,5
11	მტკვარი	7,0
12	რიონი	7,0
13	სურარმულა	5,8
14	სუფსა	6,6
15	ცხენის წყალი	7,1
16	ძამა	8,35
17	ძირულა	7,35
18	ჩაილური	7,15
19	ყვირილა	7,15

ცხრილი 3

საქართველოში ჯილეხზე არაკეთილსაიმედო პუნქტების ნიადაგების ნიმუშების pH-ის მაჩვენებლები

#	**რაიონი**	**pH**
1	გარდაბნის რაიონი-სოფ. ბერლიკი	8,2
2	გარდაბნის რაიონი სოფ. ლემშვენიერა	8,15
3	ქარელის რაიონი . აბისი	7,65
4	ახალციხის რაიონი. სოფ. წყროშა	8,3
5	დედოფლისწყაროს რაიონი სოფ. წითელწყარო	8,65
6	ქ. ქუთაისი ავტოქარხნის ტერიტორია	8,4-7,95
7	ლანჩხუთის რაიონი სოფ. ლესა შუხუთი ჯაპანა ჩიბათი	6,25 6,95 5,7 6,25
8	ზუგდიდის რაიონი სოფ. რუხი	6,35
9	სენაკი	8,9

მიუხედავად ძველი არაკეთილსაიმედო პუნქტების ცალკე ერთეულად გამოყოფისა, გამორიცხული არ არის მათი აქტიურ ჯგუფში გადასვლა, რაზედაც გავლენა შეიძლება მოახდინოს ბუნებრივმა ფაქტორებმა და ადამიანის სამეურნეო საქმიანობამ. ბუნებრივი ფაქტორებიდან გასათვალისწინებელია მიწისძვრა, წყალდიდობები, ღვარცოფები, რის შედეგადაც ადიდებულ მდინარეთა მიერ, სანაპირო ზოლის სიახლოვეს არსებული ძველი სამარხების გამორეცხვას შეიძლება მოჰყვეს სპორების დიდ მანძილზე გავრცელება. ადამიანის სამეურნეო საქმიანობიდან მნიშვნელოვანია სამშენებლო, სამელიორაციო სამუშაოები და სხვა, რომლებიც დაკავშირებულია გრუნტის გადაადგილებასთან, ცხოველის სამარხების შესაძლო გახსნასთან, რასაც თან სდევს ნიადაგის ქვედა ფენების ზედაპირზე ამოტანა და ჯილეხის აღმძვრელის სპორების გარემოში დისემინაცია [კუხალაშვილი, 2007].

ჩვენს მიერ მოძიებულ მასალაზე დაყრდნობით, ჯილეხის დაავადების კლების ტენდენცია განსაკუთრებით აისახა 2003, 2006, 2007 წწ მსხვილფეხა პირუტყვში, რაც ძირითადად მასობრივი ვაქცინაციით შექმნილი მაღალი იმუნური ფონის შედეგია.

ვაქცინაციის პარალელურად სასოფლო – სამეურნეო ცხოველებში ჯილეხის კლების ტენდენციას მნიშვნელოვნად შეუწყო ხელი სხვა პროფილაქტიკურ –ორგანიზაციული ღონისძიებების სწორმა გატარებამ. მათ შორის: მკვდარი ცხოველების დროულმა უვნებელყოფამ, ჯილეხის კერების და ცხოველთა დაცემის ადგილების დეზინფექციამ, დაავადებაზე საეჭვო ცხოველების დაკვლაზე მკაცრი კონტროლის დაწესებამ და სხვა.

3.2 ჯილეხის სავაქცინე შტამების /„სტი“, 34F$_2$/ და ბაცილების გვარში შემავალი ზოგიერთი სახეობების სტაბილურობის შესწავლა

სავაქცინე შტამების ნიშან–თვისებების, კერძოდ მორფოლოგიური, კულტურალური, ტინქტორიალური, საქაროლიზური და სხვა თვისებების შესაძლო ცვლილებებიდან გამომდინარე, ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა ექსპერიმენტში გამოყენებული შტამების სტაბილურობა.

ამ მიზნით კვლევებში გამოვიყენეთ ჯილეხის სავაქცინე „სტი“ და 34F$_2$ შტამები, აგრეთვე ბაცილების გვარში შემავალი შემდეგი სახეობის მიკროორგანიზმები: Bac. cereus, Bac. megatherium; Bac. subtilis, Bac. mycoides და Bac. Mesentericus .

აღნიშნული ასპექტების გათვალისწინებით კულტურების შესწავლა მოიცავდა მორფოლოგიური, კულტურალური, ბიოქიმიური თვისებების დადგენას, ანტიბიოტიკო და ფაგომგრძნობელობის განსაზღვრას.

ა) მორფოლოგიური და ტინქტორიალური თვისებების განსაზღვრით შევისწავლეთ მიკროორგანიზმების ფორმა, განლაგება, შეღებვისადმი დამოკიდებულება და მოძრაობა;

ბ) კულტურალური თვისებების დადგენით – ზრდის თავისებურება თხევად და მყარ საკვებ არეებში (ხპბ, ხპა, ხპჟ);

გ) ბიოქიმიური აქტივობით: ნახშირწყლების ფერმენტაცია; ამიაკის, გოგორდწყალბადის, ინდოლის გამომუშავება, აცეტილმეთილკარბინოლის გამოყოფა; რძის შედედება და მეთილენის ლურჯის რედუქცია.

მორფოლოგიური ნიშან-თვისებების შესწავლა. ამ მიზნით ნაცხებს ვღებავდით გრამის წესით, რომანოვსკი-გიმზას /კაფსულა/ და ცილ-ნელსენის /სპორა/ მეთოდებით. მოძრაობის დასადგენად გამოვიყენეთ 0.3-0.4 % -იანი აგარის გელში დიფუზიის მეთოდი.

ჯილეხის სავაქცინე „სტი“, 34F$_2$ და ჩვენს მიერ შესწავლილი Bacillus გვარში შემავალი სახეობები; გრამდადებითი, სპორის წარმომქმნელი ჩხირისებრი

ფორმის მიკროორგანიზმებია, რომლებიც კაფსულას არ გამოიმუშავებენ. გამონაკლისია Bac. cereus, რომელიც გამოიმუშავებს ნაზ კაფსულას (ცხრ 4).

ცხრილი 4

ჯილეხის სავაქცინე შტამებისა და Bacillus გვარში შემავალი ზოგიერთი სახეობების მორფოლოგიური და ტინქტონიალური თვისებები

№	სავაქცინე შტამი	გრამის წესით შეღებვა	სპორა	კაფსულა	მოძრაობა
1	Bac. anthracis „სტი“	+	+	-	-
2	Bac. anthracis 34 F_2	+	+	-	-
3	Bac. cereus	+	+	+	+
4	Bac. megatherium	+	+	-	+
5	Bac. mesentericus	+	+	-	+
6	Bac. subtilis	+	+	-	+
7	Bac. mycoides	+	+	-	+

შენიშვნა: * – ჯილეხის სავაქცინე შტამები უძრავებია, ხოლო ბაცილების გვარის სხვა სახეობები მოძრავი;

– დამოკიდებულება საღებავის მიმართ: + გრამდადებითი: – გრამუარყოფითი.

ბ) კულტურალური თვისებების შესწავლა.

მიკრობთა კულტურალური ნიშან-თვისებების შესწავლის მიზნით მოვახდინეთ მათი კულტივირება თხევად და მყარ საკვებ არეებში.

ცდების შედეგად დავადგინეთ გარკვეული განსხვავება, საკვებ არეებში ზრდის თავისებურებით ჯილეხის სავაქცინე შტამებსა და Bacillus გვარში შემავალ სახეობებს შორის (ცხრილი 5).

ცხრილი 5

ჯილეხის სავაქცინე შტამების და Bacillus გვარის მიკრობთა კულტურალური ნიშან-თვისებები

№	მიკრობის დასახელება	ზრდის თავისებურება			ჟელატინის გაჯირჯვება
		ბრეინჰარტის ბულიონი	ბრეინჰარტის აგარი (კოლონიები)/	კოლონი–ის ფორმა	
1	Bac. anthracis „სტი"	ოდნავი ოპალესცენცია, ბამბის ფთილისებრი ნალექი	მედუზისებრი კოლონიები	RO *	გადმობრუნებული ნაძვის
2	Bac. anthracis „34F_2"	გამჭვირვალე, ბამბისფთილისე–ბრი ნალექი.	მოთეთრო–რუხი, ლომის ფაფრისებრი კოლონია	R	გადმობრუნებული ნაძვის
3	Bac. cereus	აპკი, ფანტელები, შემღვრევა	მქრქალი კულულისებრი კოლონია	R	ძაბრის
4	Bac. megatherium	შემღვრევა. აპკი	დანაოჭებული გამონაზარდებით	RO	ძაბრისებრი
5	Bac. mesentericus	აპკი. შემღვრევა	ნაოჭისებრი, ლორწოვანი	S	ნაძვის ან ძაბრისებრი
6	Bac. subtilis	აპკი, ფანტელი გამჭვირვალე	მორუხო–თეთრი ზოგჯერ წაბლისებრი დანაოჭებული	R	ცილინდრისებრი
7	Bac. mycoides	დანაოჭებული აპკი	მორუხო–თეთრი ზოგჯერ წაბლისებრი დანაოჭებული	R	კრატერისებრი

შენიშვნა: * R – ხორკლიანი კოლონია; O -გლუვი კოლონია; S- ლორწოვანი

Bac. antrhacis „სტი" და 34F_2–ის შტამები ბრეინჰარტის ბულიონში 37˚C-ზე კულტივირებისას 18-20 საათის შემდეგ სინჯარის ძირზე წარმოქმნიან ბამბის ფთილისებრ ნალექს. ბულიონი გამჭვირვალეა. „სტი" სავაქცინე შტამის ზრდისას აღინიშნება სუსტი ოპალესცენცია (სურ. 1 იხ. გვ 128).

მკვრივ საკვებ არეებზე (ხპა) „სტი" სავაქცინე შტამი წარმოქმნის RO ფორმის მედუზისებრ კოლონიებს, ხოლო 34F_2-სავაქცინე შტამი იძლევა R ფორმის მოთეთრო-რუხ, ლომის ფაფრისებრ კოლონიებს. ჟელატინზე ნაზარდი მოგვაგონებს გადმობრუნებულ ნაძვს (სურ. 2 იხ. გვ 128).

Bac. cereus-ს სავაქცინე შტამი ბრეინჰარტის ბულიონში 37˚C-ზე კულტივირებისას იძლევა ნაზ აპკს, ბულიონს თანაბრად ამღვრევს. სინჯარის ძირზე წარმოიქმნება ფიფქისებრი ნალექი.

მიკრობი ბრეინჰარტის აგარზე ზრდისას წარმოქმნის მქრქალ კულულისებრ R ფორმის კოლონიებს. ჟელატინზე ნაზარდი ძაბრისებრია (სურ. 3, 4, 5. იხ გვ. 129-130).

Bac. megatherium ბრეინჰარტის ბულიონში წარმოქმნის მშრალ დანაოჭებულ აპკს. ბულიონი თავდაპირველად შემღვრეულია, შემდეგ რჩება გამჭვირვალე. ხპა-ზე ჩამოყალიბებული კოლონიები მშრალი, რუხი-თეთრი RO ფორმის და ბორცვისებრია. ჟელატინზე ზრდისას მიკრობი იძლევა ძაბრისებრ ფორმის ზრდას.

Bac. mesentericus (კომბოსტოს ჩხირი) აერობია. ბრეინჰარტის აგარზე წარმოიქმნის მბრწყინავ, სწორკიდეებიან S ფორმის კოლონიებს. ბრეინჰარტის ბულიონს ამღვრევს უმნიშვნელო ნალექის წარმოქმნით. ჟელატინზე ზრდისას მიიღება კოლონიები, რომლებიც ნაძვისებრი ან ძაბრისებრია (სურ. 6. იხ გვ.130).

Bac. subtilis ბრეინჰარტის და სოიოს ბულიონში ზრდისას წარმოიქმნება ფესვისებრი მორუხო-თეთრი R ფორმის კოლონიები, რომლებიც ჰგავს სოკოს მიცელიუმს. ბრეინჰარტის და სოიოს ბულიონში ნაზარდს აქვს ცილინდრის ფორმა. ფესვის ჩხირის შტამები ხპბ-ში წარმოქმნიან აპკს, ძნელად შლად ნალექს; ბულიონი რჩება გამჭვირვალე.

Bac. mycoides (ფესვის ჩხირი) ბრეინჰარტის და სოიოს ბულიონში ზრდისას მიკრობი წარმოქმნის დანაოჭებულ აპკს, ხორც-პეპტონიან აგარზე მორუხო-თეთრ, ფაშარ, მბრწყინავ, მსხვილ R ფორმის კოლონიებს. ხპჟ-ზე ზრდისას კოლონიები კრატერისებრი შეხედულებისაა.

ბიოქიმიური თვისებები. ბიოქიმიური თვისებების შესწავლა მოიცავდა: ნახშირწყლების ფერმენტაციას, პროტეოლიზური უნარის დადგენას, ჰემოლიზური თვისებების განსაზღვრას, „მარგალიტის ყელსაბამის“ ფენომენის, რძის შედედების და მეთილენის ლურჯის გაუფერულების დადგენას.

პროტეოლიზური თვისების განსაზღვრა. მიზნად ისახავდა ამიაკის(NH_3) და გოგირდწყალბადის (H_2S) წარმოქმნის დადგენას.

ჰემოლიზური თვისებების განსაზღვრა. ჰემოლიზური თვისებების დასადგენად გამოსაკვლევ კულტურას ვთესავდით პეტრის ფინჯანში ჩამოსხმულ ბრეინჰარტის აგარზე, რომელსაც 5%-ის მოცულობით დამატებული ჰქონდა ყოჩის ერითროციტები.

ჯილეხის სავაქცინე შტამებისა და Bacillus გვარში შემავალი მიკროორგანიზმები ბიოქიმიური აქტივობის მხრივ გარკვეული მსგავსებისაა, ხასიათდება სახეობისათვის დამახასიათებელი უმნიშვნელო გადახრებით.

Bac. anthracis სავაქცინე შტამი „სტი“ და $34F_2$ ახდენენ რძის შედედებას, მეთილენის ლურჯის რედუქციას (სურ. 9, იხ.გვ. 132), ჟელატინის გაჯირჯვებას, არ ახასიათებთ ჰემოლიზურობა (სურ. 10.იხ.გვ. 132), წარმოქმნიან გოგირდწყალბადს და ამიაკს.

ცხრილი 6

ჯილეხის სავაქცინე და Bacillus გვარში შემავალი მიკრობთა ფერმენტული აქტივობ

№	სავაქცინე შტამი	რძის შედედება	მეთილენის ლურჯის რედუქცია	ჟელატინის ჰიდროლიზი	ჰემოლიზური აქტივობა	H_2S	NH_3
1	Bacillus anthracis „სტი”	+*	+	+	-	+	+
2	Bacillus anthracis $34F_2$	+	+	+	-	+	+
3	Bacillus cereus	+	+	+	+	-	+
4	Bacillus megaterium	+	+	+	+	+	+
5	Bacillus mesenterius	+	+	+	+	+	+
6	Bacillus subtilis	+	+	+	+	+	+
7	Bacillus mycoides	+	+	+	+	+	+

შენიშვნა * + დადებითი რეაქცია; – უარყოფითი რეაქცია.

Bac. cereus - რძეს ადედებს შემდგომი პეპტონიზაციით, ახდენს მეთილენის ლურჯის რედუქციას, სწრაფად აჯირჯვებს ჟელატინს, სისხლიან აგარზე კოლონიების გარშემო აღინიშნება მკვეთრად შემოსაზღვრული ჰემოლიზის ზონა, გოგირდწყალბადს არ წარმოქმნის, გამოიმუშავებს ამიაკს (სურ. 11 იხ. გვ. 133).

Bac. Megatherium – ადედებს რძეს შემდგომი პეპტონიზაციით, ახდენს მეთილენის ლურჯის რედუქციას, აჯირჯვებს ჟელატინას და შედედებული სისხლის შრატს. ახასიათებს ჰემოლიზური აქტივობა. წარმოქმნის გოგირდწყალბადს, გამოიმუშავებს ამიაკს.

Bac. mesentericus – კომბოსტოს ჩხირი – ადედებს რძეს შემდგომი პეპტონიზაციით, ახდენს მეთილენის ლურჯის რედუქციას, სწრაფად ახდენს ჟელატინის გაჯირჯვებას, ახდენს ერითროციტების ჰემოლიზს, წარმოქმნის გოგირდწყალბადს, გამოიმუშავებს ამიაკს.

Bac. subtilis – ადედებს რძეს შემდგომი პეპტონიზაციით, ახდენს მეთილენის ლურჯის რედუქციას, აჯირჯვებს ჟელატინას, აწარმოებს სახამებლის ჰიდროლიზს, ახასიათებს ჰემოლიზური აქტივობა. წარმოქმნის გოგირდწყალბადს, წარმოქმნის ამიაკს.

Bac. mycoides – ადედებს რძეს შემდგომი პეპტონიზაციით, ახდენს მეთილენის ლურჯის რედუქციას, აჯირჯვებს ჟელატინას. ახასიათებს ჰემოლიზური აქტივობა. წარმოქმნის გოგირდწყალბადს, გამოიმუშავებს ამიაკს (სურ. 12 იხ. გვ. 134).

საქაროლიზური აქტივობის მიხედვით ბაცილების გვარის შტამებს გარკვეული განსხვავება ახასიათებთ (ცხრილი 7).

Bac. anthracis „სტი“ მჟავას წარმოქმნით ახდენს გლუკოზის, საქაროზის, სახამებლის ფერმენტაციას. ლაქტოზას, არაბინოზას და მანიტს არ შლის.

Bac. anthracis $34F_2$ შტამი შლის გლუკოზას, საქაროზას, სახამებელს. არ აწარმოებს ლაქტოზის, არაბინოზის და მანიტის დაშლას.

Bac. cereus ახდენს გლუკოზის, ლაქტოზის, საქაროზის, არაბინოზის ფერმენტაციას, არ ახდენს მანიტის და სახამებლის დაშლას.

Bac. megatherium – ახდენს გლუკოზის, ლაქტოზის, საქაროზის სახამებლის ფერმენტაციას. არაბინოზას და მანტის არ შლის.

Bac. mesentericus – მჟავას წარმოქმნით შლის გლუკოზას, ლაქტოზას, საქაროზას, სახამებელს. არ იწვევს არაბინოზას და მანიტის ფერმენტაციას.

Bac. subtilis შლის გლუკოზას, ლაქტოზას და სახამებელს, არ აწარმოებს არაბინოზას და მანიტის ფერმენტაციას, სუსტად აქვს გამოხარტული საქაროზის დაშლა.

Bac. mycoides მჟავას წარმოქმნით ახდენს გლუკოზის, ლაქტოზის, საქაროზის ფერმენტაციას. არ იწვევს არაბინოზის, მანიტის და სახამებლის დაშლას.

ცხრილი 7

ჯილეხის სავაქცინე და Bacillus გვარში შემავალი მიკრობების საქაროლიზური თვისებები

№	მიკრობის დასახელება	ნახშირბადის ფერმენტაცია					
		გლუკოზა	ლაქტოზა	საქაროზა	არაბინოზა	მანიტი	სახამებელი
1	Bac. anthracis „სტი”	მ*	-	მ	-	-	მ
2	Bac. anthracis „34’’ F_2	მ	-	მ	-	-	მ
3	Bac. cereus	მ	მ	მ	მ	-	-
4	Bac. megaterium	მ	მ	მ	-	-	მ
5	Bac. mesentericus	მ	მ	მ	-	-	მ
6	Bac. subtilis	მ	მ	±მ	-	-	მ
7	Bac. mycoides	მ	მ	მ	-	-	-

შენიშვნა*: მ – მჟავის წარმოქმნა; – მჟავას არ წარმოქმნის

3.3.ჯილეხის სავაქცინე და Bacillus გვარში შემავალი მიკრობების ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობა

მიკრობთა ანტიბიოტიკომგრძნობელობა შევისწავლეთ აგარში დიფუზიის მეთოდით, ქაღალდის დისკოების გამოყენებით.

ცხრილი 8

ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარის სხვა სახეობების ანტიბიოტიკომგრძნობელობა.

№	კულტურები	ანტიბიოტიკები					
		პოლიმიქსინი	ბაქტრიმფორტე	ტრიმეტოპრიმი	პენიცილინი	დოქსიციკლინი	სულფადიმეზინი
1	B. anthracis ,,sti''	R*	R	4+	4+	4+	4+
2	B. anthracis $34F_2$	R	R	4+	4+	4+	4+
3	B. cereus	3+	4+	R	4+	4+	3+
4	B. subtilis	3+	4+	2+	4+	4+	3+
5	B. megaterium	R	3+	R	4+	4+	R

შენიშვნა* R –შტამი რეზისტენტულია; 2+ სუსტად მგრძნობიარე; 3+ საშუალოდ მგრძნობიარე, 4+ მაღალმგრძნობიარე.

ჯილეხის სავაქცინე შტამებისა და Bacillus გვარში შემავალი მიკრობების ანტიბიოტიკომგრძნობელობის შესწავლით დავადგინეთ, რომ ჯილეხის სავაქცინე შტამები „სტი“ და $34F_2$ მგრძნობიარე აღმოჩნდა პენიცილინის, ტრიმეტროპრიმის და დოქსიციკლინის და სულფადიმეზინის მიმართ /4+/, ხოლო რეზისტენტული პოლიმიქსინისა და ბაქტრიმფორტესადმი. საპირისპირო აღმოჩნდა ბაცილების სხვა სახეობათა ანტიბიოტიკომგრძნობელობა. Bac. subtilis და Bac. cereus მაღალმგრძნობიარე აღმოჩნდა ბაქტრიმფორტეს, პენიცილინისა და დოქსიციკლინის მიმართ, რა დროსაც ზრდის ზონის შეკავების მაჩვენებელმა

შეადგინა 4+. ხოლო სულფადიმეზინისა და პოლიმიქსინის მიმართ 3+. ტრიმერტოპრიმის მიმართ. Bac. subtilis სუსტი მგრძნობელობა (2+) Bac. Cereus, რეზისტენტული. ანალოგიური აღმოჩნდა Bac. megatherium პენიცილინისა და დოქსიციკლინის მიმართ. პოლიმიქსინის, ტრიმეტროპრიმისა და სულფანილამიდური პრეპარატის – სულფადიმეზინის მიმართ რეზისტენტული.

3.4. ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარის სხვა სახეობების მიკრობთა ფაგომგრძნობელობა

მიკრობთა ფაგომგრძნობელობის შესასწავლად გამოვიყენეთ სპეციფიკური ჯილეხის გამა (γ) და Fah ფაგები.

ცხრილი 9

ჯილეხის სავაქცინე შტამების და ბაცილების გვარის სხვა სახეობების ფაგომგრძნობელობა

№	კულტურები	ფაგები	
		გამა ფაგი	Fah ფაგი
1	B. anthracis,,sti''	4+*	4+
2	B. anthracis "34 F_2"	4+	4+
3	B. cereus	R*	R
5	B. subtilis	R	R
6	B. megatherium	R	R
7	B. mesentericus	R	R

შენიშვნა* R –შტამი რეზისტენტულია; 4+ მაღალმგრძნობიარე.

გამოკვლევებით გამოიკვეთა ჯილეხის სავაქცინე შტამების (სტი, $34F_2$) მაღალი მგრძნობელობა აღნიშნული ფაგების მიმართ, რაც ლიზისის ხარისხში

აისახა და 4+ შეადგინა. ამასთან გამოვლინდა ბაცილების გვარში შემავალი მიკრობების სრული რეზისტენტობა ეტალონური გამა და Fah ფაგებისადმი.

ამრიგად, სპეციფიკური ფაგები საშუალებას იძლევა ზუსტად განხორციელდეს ჯილეხის სავაქცინე შტამების და შესაბამისად კულტურების იდენტიფიცირება Bacillus–ს გვარში შემავალი მსგავსი ნიშან-თვისებების მქონე ბაქტერიებისაგან.

3.5 ჯილეხის იმუნოდიაგნოსტიკის გაუმჯობესებული ტესტ-სისტემის შემუშავება

ჯილიხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის დამზადების საწყისი ეტაპი ჩვენს ცდებში მოიცავდა მაღალი ტიტრის საპრეციპიტაციო შრატის შერჩევას. ეს უკანასკნელი აუცილებელი წინაპირობაა იმისათვის, რომ ზუსტად ვიცოდეთ რამდენად მაღალია შრატის აქტივობა. ამ მიზნით პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით (ჯილეხის ანტიგენური დიაგნოსტიკუმის გამოყენებით) გამოკვლევებში გამოვიყენეთ კომერციული: უკრაინისა (სერია №2 2008) და რუსეთის ფედერაციაში (სერია №72, 2009 და სერია №67, 2010) დამზადებული ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატები. ცდის შედეგები მოცემულია ცხრილი 10-ში.

ცხრილი 10

ჯილეხის ჰიპერიმუნური შრატების სპეციფიკური აქტივობა (ტიტრი)

№	შრატების დასახელება	მწარმოებელი ქვეყანა	ტიტრები (ჰპარ)
1	საპრეციპიტაციო შრატი სერია 2	უკრაინა	1:100.000
2	საპრეციპიტაციო შრატი სერია 74	რუსეთი	1:25.000
3	საპრეციპიტაციო შრატი სერია 67	რუსეთი	1:50.000

როგორც ცხრილიდან ჩანს, პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით გამოკვლეული სამი საპრეციპიტაციო შრატიდან ყველაზე მაღალი აქტივობით გამოირჩეოდა უკრაინული წარმოების საპრეციპიტაციო შრატი (ს–2), რომელშიც ჯილეხის საწინააღმდეგო ანტიბაქტერიული ანტისხეულების ტიტრმა (პჰრ-ში) შედგინა -1:100.000, ანუ ამ განზავებაში მივიღეთ დადებითი შედეგი, რაც მნიშვნელოვნად აღემატება დანარჩენ შრატებში ანტისხეულების შემცველობას. დადგენილია, რომ მაღალტიტრიანი შრატებიდან მიღებული იმუნოგლობულინით დამზადებული სადიაგნოსტიკო პრეპარატი უფრო მგრძნობიარეა.

აღნიშნული საპრეციპიტაციო შრატებიდან გლობულინის მიღება განხორციელდა სპირტული მეთოდით მეთანოლის გამოყენებით (Dubert at al.1953). ნარჩენი სპირტისა და სხვა დაბალ მოლეკულური მინარევების მოსაცილებლად იმუნოგლობულინური ხსნარის გაწმენდას ვაწარმოებდით დიალიზით (სადიალიზო პარკის ფორების ზომა შეადგენდა 10,000 კილოდალტონს). პრეპარატის სპეციფიკურობის ასამაღლებლად ვახდენდით ნედლეულის – ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატის ადსორბციას Bacillus-ს გვარის სახეობების B.cereus და B.megatherium-ს გამოყენებით. კულტურების ჩამორეცხვის შემდეგ არსებული სიმღვრივის სტანდარტის მიხედვით ვამზადებდით თანაბარი მოცულობის 2 მლრდ/მლ კონცენტრაციას. შრატის ყოველ 1 მლ-ს ვამატებდით ბაქტერიული სუსპენზიის 0.1 მლ, შენჯღრევის შემდეგ ვდგამდით თერმოსტატში 15-20 წუთი 37°C-ზე. ადსორბციის შემდეგ სუსპენზიას ვაცენტრიფუგირებდით 6000 ბრ/წთ 20 წთ განმავლობაში, შემდეგ შრატს ვფილტრავდით სასტერილიზაციო ფილტრში – millipore (ფორის ზომა - 0,22 μm).

მაღალმგრძნობიარე, აქტიური სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მომზადების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ეტაპი არის ადსორბენტის (ერითროციტები) სტაბილიზაციის მეთოდის შრჩევა. ამ მიზნით ჩვენს ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ ერითროციტების ფორმალდეჰიდით დამუშავების სხვადასხვა მეთოდი (ცხრილი 11).

ცხრილი 11

სხვადასხვა მეთოდით დამუშავებული ერითროციტების სპეციფიკურობის შესწავლა

#	ერითროციტების ფორმალინიზაცია	აღმოჩენილი მიკრობების რაოდენობა (ათასი)								
		1600	800	400	200	100	50	25	12,5	6
1	Csizmas 1960	+++ *	+++	+++	++	-	-	-	-	-
2	Меньшов,Шмутер 1978	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
3	Маянский с соавт. 1968	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++	-

შენიშვნა: 4+; 3+ – დადებითი პასუხი (გამოვლენილი მიკრობების რაოდენობა);

+2+ ; +; – უარყოფითი პასუხი.

როგორც ცხრილიდან ჩანს, Csizmas მეთოდით დამუშავებული ერითროციტების გამოყენებით აღმოჩენილი მიკრობთა რაოდენობა 400 ათასს (3+) შეადგენს, Меньшов, Шмутер 1978-ის მეთოდით 100 ათასს, ხოლო Маянский с соавт. (1968) მეთოდით კი შესაძლებელი გახდა 25 ათასი მიკრობის აღმოჩენა. მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით გამოვლინდა, რომ Маянский с соавт. მიერ შემუშავებული მოდიფიცირებული მეთოდი უზრუნველყოფს ჯილეხის მაღალმგრძნობიარე, სპეციფიკური ტესტ-სისტემის მიღებას.

დიაგნოსტიკუმის დასამზადებლად ფორმალინიზირებულ ერითროციტებს ვრეცხავდით ნატრიუმის ქლორიდის 0.9 %-ანი ხსნარით და ვახდენდით რესუსპენდირებას ამავე ხსნარით (pH=7.0-7.2) და ვამზადებდით ერითროციტების 2,5%-იან შენაწონს. აღნიშნულ სუსპენზიაში ერითროციტების რაოდენობა შეადგენდა 5-6X10^5 უჯრედს. მზა პრეპარატის სპეციფიკურობის და მგრძნობელობის ამაღლების მიზნით (ერითროციტების ზედაპირიდან ცილოვანი და სხვა არასპეციფიკური ნაერთების მოსაცილებლად), 5 მილილიტრ 2,5%-იან სუსპენზიას ვამატებდით ორქრომმჟავა კალიუმის ($K_2CR_2O_7$) სხვადასხვა განზავების (1:1000; 1:5000; 1:20 000) თანაბარ მოცულობას და ვათავსებდით

თერმოსტატში 37°C 20 წუთის განმავლობაში. კალიუმის ბიქრომატით დამუშვებულ ერითროციტებს ვრეცხავდით ნატრიუმის ქლორიდის 0.9%-იანი სხნარით და ვამზადებდით 2,5%-იან სუსპენზიას. სპეციფიკურობის და მგრძნობელობის თვალსაზრისით საუკეთესო შედეგი მიღებულ იქნა ფორმალინიზირებული ერითროციტების კალიუმის ბიქრომატით 1:5000-ზე განზავებით დამუშავების შემთხვევაში.

ადსორბციული თვისებების გაუმჯობესების მიზნით, ერითროციტების 2,5% სუსპენზიის 5 მლ ვამატებდით ტანინის მჟავას (კონცენტრაცია 2,0X10⁴) თანაბარი მოცულობით და ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C 20 წთ განმავლობაში, შემდეგ 2-ჯერ ვრეცხავდით 1/15 M ფოსფატის ბუფერით pH=7,2 და ერთხელ 1/15 M ფოსფატის ბუფერით pH=6,4. ჩამორეცხილი ერითროციტების რესუსპენზირებას ვახდენდით ნატრიუმის ქლორიდის 0.9%-იანი ხსნარით 2,5%-იან კონცენტრაციამდე და ვამატებდით სენსიტინს-ჯილეხის საწინააღმდეგო იმუნოგლობულინს.

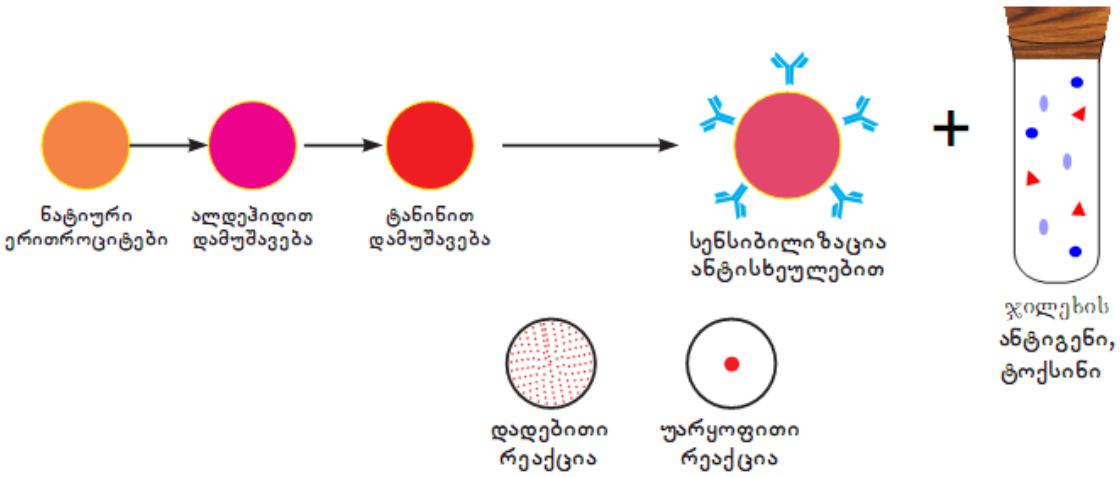
სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემების დამზადების პროცესში განსაკუთ-რებული მნიშვნელობა ენიჭება ფორმალინიზირებული და კალიუმის ბიქრომატით დამუშვებული ერითროციტების სენსიბილიზაციას (ანტისხეუ-ლებით დატვირთვას). ცილებით ერითროციტების სენსიბილიზაციის პროცესი სენსიტინისა და ადსორბენტის ურთიერთქმედება რთული მექანიზმია, რომლის რაოდენობრივი დახასიათება დღეისათვის ბოლომდე არ არის შესწავლილი. ცნობილია, რომ ოპტიმალური ჰემოსენსიბილიზაცია დამოკიდებულია სენსიტინის კონცენტრაციაზე, სენსიბილიზაციის ხანგრძლივობაზე, სხნარის ტემპერატურაზე, წყალბადიონთა კონცენტრაციაზე (pH) და სხვა.

ტანინის მჟავით (1:20000) დამუშავებული ერითროციტების სენსიბილიზაციას, ჯილეხის საწინააღმდეგო იმუნოგლობულინით ვახდენდით თერმოსტატში 37°C 3-საათის განმავლობაში, სუსპენზიის პერიოდული შენჯღრევით, შემდეგ ნარევი გადაგვქონდა მაცივარში +6 +8 °C–ზე, 10–16 საათის განმავლობაში. სენსიბილიზაციის დამთავრებამდე ნახევარი საათით ადრე სუსპენზიას ვუმატებდით 1% ფორმალინს, სტაბილიზაციის მიზნით.

იმუნოგლობულინის ოპტიმალური სასენსიბილიზაციო დოზის განსაზღვრას ვაწარმოებდით ექსპერიმენტულად, რისთვისაც ერითროციტების თანაბარ მოცულობაზე (5 მლ) ვიღებდით ჯილეხის იმუნოგლობულინის სხვადასხვა დოზას (ყოველ 1 მლ 2,5 %-ან ერითროციტების სუსპენზიაზე 50 მკგ, 80 მკგ, 150 მკგ და 200 მკგ ცილა). ცდებით დავადგინეთ, რომ იმუნოგლობულინის ოპტიმალური სასენსიბილიზაციო დოზა 150-160 მიკროგრამია. აღნიშნული დოზით დატვირთული ერითროციტები ხასიათდებიან მაღალი მგრძნობელობით, რაც დადასტურდა საკვლევ სუსპენზიაში 20-50 ათასი მიკრობული ერთეულის აღმოჩენით (ჯილეხის ,,სტი'' ვაქცინა).

სქემა 3

ჯილეხის ანტიგენის (მიკრობის კედლის ანტიგენი, ტოქსინი) განსაზღვრა პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში



ჯილეხის იმუნოგლობულინის ოპტიმალური დოზის გამოყენებით დამზადებული იქნა სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემა, რომლის სპეციფიკურობა და მგრძნობელობა შესწავლილ იქნა ჯილეხის სავაქცინე შტამებზე (სტი-1 ვეგეტატიური ფორმა; სტი-1 სპოროვანი ფორმა; $34F_2$- ვეგეტაციური ფორმა; ჯილეხის სავაქცინე შტამი- Ikhtiman ვეგეტაციური ფორმა) და Bacillus გვარის

წარმომადგენლებზე (B.cereus, B.anthracoides, B.thuringiensis, B.megaterium, B.subtilis). მიღებული შედეგები მოცემულია ცხრილში (ცხრილი 12).

ცხრილი 12

ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მგრძნობელობა და სპეციფიკურობა პჰრ-ში

#	გამოყენებული შტამები	აღმოჩენილი მიკრობების რაოდენობა (ათასი)								
		1600	800	400	200	100	50	25	12,5	6
1	სტი-1 სპორა	++++ *	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	+
2	სტი-1 ვეგეტაც.	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+
3	$34F_{2-}$ ვეგეტაც.	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+
4	B.anthr.Ikhtiman ვეგეტ	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	+
5	B.cereus	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	B.anthracoides	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	B.thuringiensis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	B.megaterium	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	B.subtilis	-	-	-	-	-	-	-	-	-

შენიშვნა: * +++ – გამოვლენილი მიკრობების რაოდენობა;

++ და – უარყოფითი პასუხი.

როგორც ცხრილიდან ჩანს, შემუშავებულ სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემით შესაძლებელია 20-50 ათასი „სტი“ სავაქცინე შტამის, $34F_2$ და Ikhtiman -ის მიკრობული ვეგეტატიური უჯრედის, და 40–50 ათასი ,,სტი-1'' სპორის აღმოჩენა. შემოთავაზებული სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის აუღრესად დადებით მხარედ შეიძლება ჩაითვალოს ის ფაქტი, რომ ის უარყოფით შდეგებს იძლევა B.cereus-ს გვარის მიკრობებთან, რაც ადასტურებს ტესტ-სისტემის სპეციფიკურობას.

ჩვენს მიერ შემუშავებული ტესტ-სიტემის მგრძნობელობა შესწავლილ იქნა სხვა ტექნოლოგიით მიღებულ ანალოგიურ სადიაგნოსტიკო პრეპარატთან. კვლევის შედეგები წარმოდგენილია მე-13 ცხრილში.

ცხრილი 13

ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მგრძნობელობა

#	საცდელი ტესტ-სისტემის დასახელება	ჯილეხის სპოროვანი ვაქცინის (სტი-1) გამოვლენილი რაოდენობა	სარწმუნო განსხვავება (P)
1	ტესტ-სისტემა, მომზადებული ჩვენს მიერ შემუშავებული მეთოდით	17,9±2,5	<0,01
2	დიაგნოსტიკუმი მომზადებული Фомичева და სხვა. 1971 მეთოდით.	192,0±15,0	<0,05

შემუშავებული სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის შედარებითმა შეფასებამ აჩვენა მისი მაღალი მგრძნობელობა. ცდებმა დაადასტურა, რომ ჩვენს მიერ შემუშავებული ტესტ-სისტემა თავისი აქტივობით 10-ჯერ აღემატება არსებულ ანალოგიურ პრეპარატს .

ამრიგად, ჩატარებულ სამუშაოს თუ შევაჯამებთ შეიძლება ითქვას, რომ შემუშავებულია ახალი სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემა (კიტი) ჯილეხის ერითროციტული იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმი, რომელიც ხასიათდება მაღალსპეციფიკურობით და გრძნობელობით. შემუშავებული სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის დანიშნულებაა, ჯილეხის გამომწვევის აღმოჩენა პათოლოგიურ მასალაში, მათ შორის ტყავ–ნედლეულში და ჯილეხზე საეჭვო გარემო არის ობიექტებში. ტესტ–სისტემა საშუალებას იძლევა ერთდროულად მრავალ ათეულ სინჯს ჩაუტარდეს რეტროსპექტული ანალიზი B. anthracis გამოსავლენად.

სადიაგნოსტიკო პრეპარატის ვადის გახანგრძლივების და სტაბილურობის შენარჩუნების მიზნით ვაწარმოებდით მის ლიოფილიზაციას ჟელატოზა–საქაროზას ნიადაგში (5% ჟელატინი, 7% საქაროზა). აღნიშნულ ნიადაგში გახსნის შემდეგ ნახევარ ფაბრიკატს ვყინავდით –40–45°C–ზე. შრობა მიმდინარეობდა შემდეგ რეჟიმში: საწყისი ტემპერატურა საშრობ აპარატში იყო 16–20°C, ვაკუუმი 20–30 10^3 მმ სინდიყის სვეტის, შემდეგ ტემპერატურა იმატებდა 6–8 საათის

განმავლობაში +2 +4°C –ით, ბოლოს ტემპერატურა იწევდა 25–28°C–მდე, 10–12 საათის განმავლობაში.

მშრალი სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის სპეციფიკურ აქტივობას ვამოწმებდით ლიოფილიზაციიდან ყოველ 6 თვეში. შემოწმებამ გვიჩვენა, რომ პრეპარატი აქტივობას ინარჩუნებდა 2 წლის განმავლობაში. აქედან გამომდინარე შეიძლება ითქვას, რომ აღნიშნული ტესტ–სისტემის ვარგისიანობის ვადა 2 წელია.

3.6. ჯილეხის სადიაგნოსტოკო ტესტ-სისტემის სპეციფიკურობის შესწავლა

ნიადაგსა და წყალში Bacillus გვარის სახეობების არსებობიდან გამომდინარე (Bac. subtilis, Bac. megaterium, Bac. mesentericus, Bac. mycoides, Bac. cereus), რომელთაც აქვთ ანტიგენური მსგავსება ჯილეხის აღმძვრელთან, შესაძლებელს ქმნის აღნიშნულ ობიექტებზე, პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის დადგმისას მივიღოთ არასპეციფიკური შედეგები. ყოველივე ამის გათვალისწინებით მიზნად დავისახეთ რეაქციის სპეციფიკურობის შესწავლა, ბაცილების გვარში შემავალი ზოგიერთი სახეობებით კონტამინირებული ნიადაგისა და წყლის ნიმუშების გამოკვლევა.

ჯილეხის სავაქცინე შტამები - „სტი“, 34F2 და Bacillus გვარში შემავალი სხვა მიკროორგანიზმების (Bac. subtilis, Bac. megaterium, Bac. mesentericus, Bac. mycoides, Bac. cereus), მიკრობული კულტურები ჩავთესეთ ხპა–ზე და დავდგით თერმოსტატში 37°C–ზე 18 სათის განმავლობაში. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ ნაზარდი ჩამოვრეცხეთ ფიზიოლოგიური ხსნარით. ძირითადი სუსპენზიიდან მოვახდინეთ განზავება არსებული სტანდარტის შესაბამისად. მიკრობთა რაოდენობამ 1 მლ-ში შეადგინა 1 მლრდ მიკრობულ ერთეულამდე.

რეაქციის დადგმისათვის გამოვიყენეთ პოლისტიროლის ფირფიტები, რომლის ფოსოებში შეგვქონდა 0,25 მლ ტვინ-80 (1:100). ვამატებდით 0.25 მლ. მოცულობით ინაქტივირებულ, ჯილეხის სავაქცინე შტამით, ხელოვნურად კონტამინირებულ ტყავის, ნიადაგისა და წყლის ნიმუშების სუსპენზიას

(განზავება 1:2). პიპეტმანით ვურევდით და 0,25 მლ გადაგვქონდა მეორე ფოსოში (განზავება 1:4). ამავე თანმიმდევრობით მეორედან მესამეში და ა.შ., 1:128 განზავე–ბამდე. ბოლო ფოსოდან ზედმეტი 0,25მლ გადაგვქონდა სადეზინფექციო ხსნარში. ფოსოებში ვაწვეთებდით 0,05 მლ (თითო წვეთი) ჯილეხის ანტისხეულურ დიაგნოსტიკუმს.

გულდასმით შენჯღრევის შემდეგ ვაყოვნებდით თერმოსტატში 37°C–ზე 40 წუთს და ნახევარი საათი ოთახის ტემპერატურაზე. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ ვახდენდით შედეგების აღრიცხვას.

პარალელურად ვდგამდით კონტროლებს (დიაგნოსტიკუმის, ანტიგენის, გამოსაკვლევი ექსტრაქტის, განმაზავებელი სითხის). ფირფიტას ფრთხილად ვანჯღრევდით ინგრედიენტების შერევის მიზნით.

ცხრილი 14

ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის სპეციფიკურობის მაჩვენებლები

№	მიკრობის დასახელება	შედეგი			
1	Bac. anthracis „სტი”	+	+	+	+
2	Bac. anthracis 34 F_2	+	+	+	+
3	Bac. cereus	-	-	-	-
4	Bac. megaterium	-	-	-	-
5	Bac. mesenterium	-	-	-	-
6	Bac. subtilis	-	-	-	-
7	Bac. mycoides	-	-	-	-

შენიშვნა: + რეაქცია დადებითია; - რეაქცია უარყოფითი

მიღებულმა შედეგებმა გვაჩვენა, რომ ბაცილების გვარის ყველა ნიმუში აღმოჩნდა უარყოფითი, ხოლო სავაქცინე შტამების მიმართ რეაქცია დადებითი,

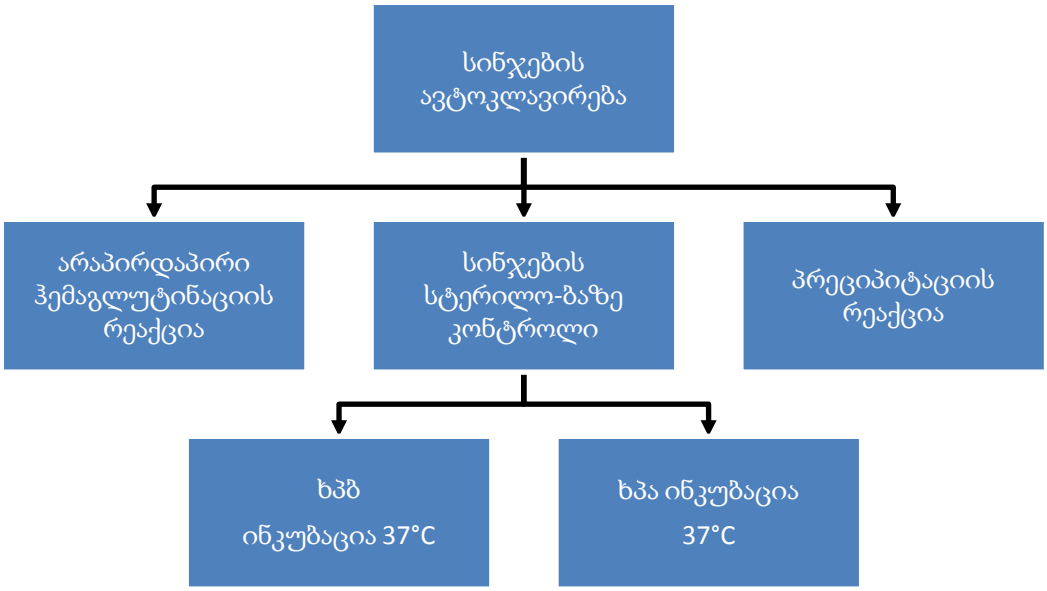
რაც მიუთითებს, რომ აღნიშნული დიაგნოსტიკუმი სპეციფიკურია ჯილეხის აღმძვრელის მიკრობისადმი.

3.7. „სტი“(სანიტარიულ–ტექნიკური ინსტიტუტი) სავაქცინე შტამით ხელოვნურად კონტამინირებული ტყავის, ნიადაგისა და წყლის ნიმუშების გამოკვლევა შემუშავებული ტესტ–სისტემით

კვლევის მიზანი იყო, შემუშავებული ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის გამოყენებით, პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში მგრძნობელობის განსაზღვრა. რეაქციის დასადგმელად გამოვიყენეთ ჩვენს მიერ მომზადებული ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემა. პარალელურად პრეციპიტაციის რეაქციით მოვახდინეთ „სტი“ სავაქცინე შტამით ხელოვნურად კონტამინირებული ტყავისა და ნიადაგის ნიმუშების გამოკვლევა, რომელიც გამოვსახეთ სქემით (იხ. სქემა 2)

სქემა 2

ნიადაგის და ტყავის ნიმუშებში Bac. anthracis ინდიკაციის სქემა



1. სავაქცინე შტამი „სტი“-ს ფლაკონი (ფლაკონში ყოველი 1 მლ = 26 მლნ სპორა) გულდასმით შევანჯღრიეთ, ამოვიღეთ 4.5 მლ. დავაცენტრიფუგეთ 5000 ბრ/წთ 15-20 წუთის განმავლობაში.

2. ნალექზედა სითხე გადავღვარეთ. ნალექში დარჩა 100 მლნ/მლ-ში სპორა.

3. ნალექი გავხსენით 2 მლ გამოხდილ წყალში. კონცენტრაციამ შეადგინა 50 მლნ/მლ-ში.

4. საკვლევი მსალების (ნიადაგის, წყლის, ტყავის) 1–1გრ სინჯს ვამატებდით განზავებულ ვაქცინას. გამოსაკვლევი მასალა გაუვნებელყოფილ იქნა ავტოკლავში 1.0 ატმ. 2.0 საათის განმავლობაში. გულდასმით შენჯღრევის შემდეგ დავაყოვნეთ 0.5 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე და ნალექზედა სითხე გამოვიკვლიეთ პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით. „სტი“ ვაქცინის სპოროვანი 100 მლნ/მლ სითხე 0.25 მლ მოცულობით შეგვქონდა პირველ ფოსოში, გულდასმით შერევის შემდეგ 0.25 მლ გადაგვქონდა მეორე ფოსოში. მეორედან ანალოგიური თანმინდევრობით მესამეში და ა.შ. ბოლო 0.25 მლ ვღვრიდით სადეზინფექციო ხსნარში. ფოსოებში ვაწვეთებდით ჩვენს მიერ მომზადებულ დიაგნოსტიკუმს 0.5 მლ რაოდენობით და რეაქციას ვაყოვნებდით თერმოსტატში 37^0C–ზე 3 საათის განმავლობაში.

ანალოგიური თამნინდევრობით ხელოვნურად დავასნებოვნეთ ტყავის და გამოსაკვლევი წყლის ნიმუშები.

გამოსაკვლევი ტყავის ნიმუშები (1გრ) დავაქუცმაცეთ მცირე ზომის ნაჭრებად, ვამატებდით 10 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარს და ვახდენდით ექსტრაგირებას 20 წთ-ის განმავლობაში. ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 16-18 საათის განმავლობაში. შემდეგ ვფილტრავდით მილიპორის 0.45 მკმ-იან ფილტრში და ვდგამდით რეაქციას კლასიკური (დაფენის) მეთოდით.

შედეგების შეფასება: დადებითი რეაქციის დროს, გამოსაკვლევი მასალის მაქსიმალურ განზავებაში და სავაქცინე შტამი „სტი“-ს ფორებთან ერითროციტები დალექილია ქოლგისებურად, რომელიც ფარავს ფოსოს ზედაპირის 2/3-ს.

საკონტროლო ფოსოებში უარყოფითი რეაქციის დროს ერითროციტები დალექილია „ღილისებრად“.

ცხრილი 15

„სტი“ სავაქცინე შტამით ხელოვნურად კონტამინირებული ნიადაგის, ტყავის და წყლის ნიმუშების გამოკვლევა /პჰრ/-ით

გამოვლენილ მიკრობთა რაოდენობა / ნიმუში	მიკრობთა საერთო რაოდენობა										
	12.5 მლნ	6.3 მლნ	3.65 მლნ	1.7 მლნ	850 ათასი	425 ათასი	212 ათასი	106 ათასი	53 ათასი	25.15 ათასი	12 ათასი
ნიადაგი	+*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ტყავი	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
წყალი	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
შრატის კონტროლი	-										
დიაგნოსტიკუმის კონტროლი	-										

შენიშვნა: * + დადებითი პასუხი

–უარყოფითი პასუხი.

3.8. ტყავ-ნედლეულის, წყლის და ნიადაგის გამოკვლევა ჯილეხზე

ჯილეხის აღმძვრელის გამოვლენა გარემოს ობიექტებში, ცხოველურ პროდუქტებსა და ტყავ-ნედლეულში ძირითადად ბაქტერიოლოგიური მეთოდით ხორციელდება. ეს უკანასკნელი საკმაოდ შრომატევადია და დიდ დროს – 3-510 დღეს დღეს საჭიროებს.

დაავადების გავრცელების ინტენსივობა მოითხოვს სწრაფი, მარტივი და ეკონომიკურად ხელმისაწვდომი კვლევების ჩატარების აუცილებლობას. ჯილეხის სადიაგნოსტიკო თანამედროვე მეთოდები: პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზი, იმუნო–ფლუორეს-

ცენტული მეთოდი მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით ძვირადღირებული, შრომატევადი და ნაკლებად გამოსადეგია სინჯების რეტროსპექტული გამოკვლევებისათვის. მათი გამოყენება საკმაოდ დიდ ხარჯებთანაა დაკავშირებული. ამიტომ, დღეს უაღრესად აქტუალურია მაღალმგრძნობიარე, სპეციფიკური და ეკონომიკურად გამართლებული სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის შემუშავება.

სადისერტაციო თემის კვლევითი სამუშაოები ითვალისწინებდა ტყავნედლეულში, ნიადაგსა და წყალში Bac. anthracis სწრაფ ინდიკაციას.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში, დიაგნოსტიკუმად გამოვიყენეთ კომერციული (რუსული ანტისხეულური ჯილეხის დიაგნოსტიკუმი) და ჩვენს მიერ შემუშავებული ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემები. ცდების პროცესში, პასიური ჰემაგლუტინაციის და ასკოლის რეაქციით გამოვიკვლიეთ 130 მსხვილფეხა პირუტყვის ტყავის, 19 მდინარის და ჯილეხზე საეჭვო 391 ნიადაგის ნიმუში.

მცირე ზომებად დაქუცმაცებული ტყავის ნიმუშები გავაუვნებლეთ ავტოკლავში 128°C 2 ატმოსფეროზე, 30 წუთის განმავლობაში. შემდეგ ვამატებდით 0.9%-იან NaCL–ის იზოტონურ ხსნარს და ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 30 წუთის განმავლობაში. შემდეგ ვფილტრავდით და ფილტრატზე ვდგავდით რეაქციას მაკრო და მიკრომეთოდით.

მაკრომეთოდით პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია დავდგით პოლისტიროლის ფირფიტაზე. ფირფიტის ფოსოებში შეგვქონდა 0,25მლ ტვინ-80. ვამატებდით 0.25 მლ. რაოდენობით ტყავის ნიმუშების სუსპენზიას (განზავება 1:2). პიპეტით გულდასმით ვურევდით და 0,25 მლ გადაგვქონდა მეორე ფოსოში (განზავება 1:4). ამავე თანმიმდევრობით მეორედან მესამეში და ა.შ. ბოლო ფოსოდან ზედმეტი 0,25 მლ გადაგვქონდა სადეზიფენქციო ხსნარში. ფოსოებში ვაწვეთებდით 0,05მლ ჩვენს მიერ მომზადებულ ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემას. კარგად ვანჯღრევდით და ვაყოვნებდით თერმოსტატში 37°C -ზე 40 წუთის განმავლობაში. შემდეგ ვაყოვნებდით ნახევარი საათი ოთახის ტემპერატურაზე. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ ვახდენდით შედეგების

აღრიცხვას.

მიკრომეთოდისათვის ვიყენებდით ტაკაჩის აპარატს. რეაქციას ვდგამდით 0.025 მლ მოცულობით და ვაწვეთებდით 0,7%–ან დიაგნოსტიკუმს. მიკრომეთოდის დადგმის მეთოდიკა მაკრომეთოდის იდენტურია.

ჩვენს მიერ გამოკვლეული 130 მსხვილფეხა პირუტყვის ტყავის ნიმუშებიდან ყველა შემთხვევა აღმოჩნდა უარყოფითი (კეთილსაიმედო). ფირფიტას ფრთხილად ვანჯღრევდით ინგრედიენტების შერევის მიზნით. პარალელურად ვდგამდით კონტროლებს (დიაგნოსტიკუმის, ანტიგენის, გამოსაკვლევი ექსტრაქტის, განმაზავებელი სითხის). ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა ტყავის ნიმუშებზე არ ჩაგვიტარებია.

ექსპერიმენტების შემდეგ ეტაპზე პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით და ბაქტერიოლოგიური ანალიზით გამოკვლეულ იქნა 391 ნიადაგის და 19 მდინარის ნიმუშები.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის მსვლელობას ვახდენდით კლასიკური მეთოდით. მიღებული შედეგებიდან 391 ნიადაგის სინჯიდან 371 აღმოჩნდა უარყოფითი, 18 დადებითი.

ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის შემთხვევაში 375 უარყოფით, ხოლო 16 დადებითი შედეგი მივიღეთ.

წყლის ნიმუშების გამოკვლევის შედეგად აღმოჩნდა, რომ, 19 სინჯიდან 18 უარყოფითია, 1 დადებითი. ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევისას 19 უარყოფითი.

დღესათვის, პრეციპიტაციის (ასკოლის) რეაქცია ძირითადად გამოიყენება ტყავ-ნედლეულსა და მკვდარი ცხოველების შინაგანი ორგანოების (ელენთა, ღვიძლი, გული) ჯილეხზე გამოსაკვლევად.

რეაქციის დადგმის წინ ვახდენდით ტყავის ნიმუშების დაქუცმაცებას მცირე ზომებად (10მმX10მმ). შემდეგ აღებულ მასალას ვამატებდით ფიზიოლოგიურ ხსნარს და ვასტერილებდით ავტოკლავში, ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 30 წუთის განმავლობაში. მიღებულ მასალას ვფილტრავდით და ვდგავდით რეაქციას დაფენის მეთოდით.

ცხრილი 16

ტყავ-ნედლეულის, ნიადაგის და მდინარეთა წყლების

გამოკვლევის შედეგები

№	ობიექტის დასახელება	რაოდენობა	პჰრ		ასკოლის რეაქცია		ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა	
			უარყოფითი	დადებითი	უარყოფითი	დადებითი	უარყოფითი	დადებითი
1	ტყავ–ნედლეული	130	130	-	130	-	გ.ა.ჩ	გ.ა.ჩ
2	ნიადაგი	391	373	18	გ.ა.ჩ	გ.ა.ჩ	375	16
3	წყალი	19	18	1	გ.ა.ჩ	გ.ა.ჩ	19	-

შენიშვნა: გ.ა.ჩ. გამოკვლევა არ ჩატარებულა

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით 1,5-3 საათის განმავლობაში აღმოჩენილი ვეგეტატიური ფორმების რიცხვი იყო 20–50 ათასი მიკრობი /მლ-ში, ხოლო სპორებისა 40 ათასი მიკრობი /მლ-ში.

ცდებმა ცხადყო ტყავ-ნედლეულის გამოკვლევისას პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის და ასკოლის რეაქციის მაჩვენებლების დამთხვევა. ტყავ-ნედლეულის 130 ნიმუშიდან 130 აღმოჩნდა უარყოფითი. ნიადაგის 391 ნიმუშის გამოკვლევით პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით ჯილეხის აღმძვრელის არსებობა დადგინდა 18, ხოლო 373 ნიმუშში უარყოფითი. ნიადაგის ნიმუშებზე ასკოლის რეაქცია არ ჩაგვიტარებია. ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევისას დაფიქსირდა 375 უარყოფითი და 16 დადებითი შედეგი. წყლის 19 ნიმუშიდან პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით გამოკვლევისას 18 აღმოჩნდა უარყოფითი, ხოლო 1 დადებითი შედეგი, წყლის სინჯებზე პრეციპიტაციის

რეაქცია არ ჩაგვიტარებია. ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევით ყველა ნიმუში აღმოჩნდა უარყოფითი.

გაუმჯობესებული სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის მგრძნობელობა (სპეციფიკური აქტივობა) შესწავლილ იქნა ექსპერიმენტში, თეთრ თაგვებზე. თეთრ თაგვებში (მასა 18–20 გრ) წინასწარ (48 სთ ადრე) შეყვანილ იქნა ინტრაპერიტონეალურად ჯილეხის სავაქცინე შტამის ($34F_2$) ერთი მილიონი ($1,0x10^6$) კოლონიაწარმომქნელი ერთეული (ბაქტერია). ცხოველებიდან სისხლს ვიღებდით პასტერის პიპეტით ინტრაორბიტალურად და გამოვყოფდით შრატს. ვახდენდით შრატის ინაქტივაციას და ადსორბციას არასასურველი კომპლემენტის და ჰემაგლუტინინების მოსაცილებლად. ცხოველების შინაგან ორგანოებს (ფილტვი,ღვიძლი,ელენთა,თირკმელი) ვსრისავდით ფაიფურის როდინში და ვამზადებდით სუსპენზიას. მომზადებულ შრატს და სუსპენზიას შინაგანი ორგანოებიდან ვიკვლევდით პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში გაუმჯობესებული ტესტ–სისტემის გამოყენებით ვაქცინის შეყვანიდან 48 საათის შემდეგ.

ცხრილი 17

ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის შესწავლა
მგრძნობელობაზე თეთრ თაგვებზე

გამოყენებული ვაქცინა	ვაქცინის დოზა ინტრაპერიტონ.	გამოკვლეული ორგანოები და შედეგები				
		ღვიძლი*	ელენთა	შრატი	ფილტვი	თირკმელი
34 F_2	$1,0x10^6$ კწე	+	+	+	+	–

ცდებმა აჩვენა, რომ დადებითი შედეგი მიღებულ იქნა შრატის, ღვიძლის, ფილტვის და ელენთის გამოკვლევისას, რაც ადასტურებს სავაქცინე შტამის შემცველობას აღნიშნულ ორგანოებში. უარყოფითი პასუხი მიღებულ იქნა თირკმლის გამოკვლევისას. მიღებული შედეგი გვიჩვენებს, რომ ჩვენს მიერ შემუშავებული გაუმჯობესებული ტესტ–სისტემის გამოყენება მიზანშეწონილია ჯილეხზე საეჭვო ცხოველების გამოსაკვლევად.

მიღებული შედეგების ანალიზი

ჯილეხის წინააღმდეგ ბრძოლა ჯანდაცვისა და ვეტერინარიის სამსახურის ერთ-ერთი აქტუალური საკითხია. ჯილეხის აღმძვრელის მიერ გარემოში სპორის წარმოქმნა და ნიადაგში ათეული წლობის განმავლობაში სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება, სპოროვანი ფორმიდან ვეგეტატიურში და პირუკუ გადასვლა, მუდმივად ქმნის დაავადების აფეთქების საშიშროებას; მნიშვნელოვნად აფერხებს აღმძვრელის, როგორც ბიოლოგიური ობიექტის აღმოფხვრას.

ჯილეხისადმი დიდი ინტერესს განპირობებს, სოციალურ-ეკონომიკური და სხვა საკითხთა ნუსხა, რომელიც ეხება აღმძვრელის ბუნებას, პათოგენეზს, დიაგნოსტიკას, სამკურნალო-პროფილაქტიკურ საშუალებებს და სხვა.

ჯილეხის გავრცელებაში გავლენას ახდენს ბუნებრივი ფაქტორები და ადამიანის სამეურნეო საქმიანობა. ბუნებრივი ფაქტორებიდან გასათვალის-წინებელია მიწისძვრა, წყალდიდობები, ღვარცოფები, რის შედეგადაც ადიდებულ მდინარეთა მიერ, სანაპირო ზოლის სიახლოვეს არსებული ძველი სამარხების გამორეცხვას შეიძლება მოჰყვეს სპორების დიდ მანძილზე გავრცელება. ადამიანის სამეურნეო საქმიანობიდან მნიშვნელოვანია ცხოველის დაკვლა-გატყავების და ხორცის დამუშავების პროცესი, სამშენებლო, სამელიორაციო სამუშაოები და სხვა, რომლებიც დაკავშირებულია გრუნ-ტის გადაადგილებასთან, ცხოველის სამარხების შესაძლებელ გახსნასთან, რასაც თან სდევს ნიადაგის ქვედა ფენების ზედაპირზე ამოტანა და ჯილეხის აღმძვრელის სპორების გარემოში დისემინაცია.

ჯილეხისადმი განსაკუთრებული ყურადღება გამოწვეულია მისი ბიოლოგიურ იარაღად გამოყენების შესაძლებლობლობით.

ჯილეხით ადამიანთა დაავადების კლების ტენდენცია ჯერჯერობით არ აღინიშნება და არსებული მდგომარეობის რადიკალურად შეცვლა შინაური საქონლის ავადობის მკვეთრი შემცირების გარეშე ფაქტიურად შეუძლებელია.

2001-2015 წლებში საქართველოში ჯილეხით ადამიანთა დაავადების შემთხვევები დაფიქსირდა იმ ტერიტორიებზე, რომლებიც ადრე ცხოველსამარხებს წარმოადგენდა. სტატისტიკური მონაცემებით საქართველოში 2001-2015 წწ ჯილეხით დაავადებულ ადამიანთა რაოდენობამ 812 შეადგინა. ჯილეხით დაავადებული ცხოველების რიცხვმა 2000-2011 წწ. შეადგინა 108, – აქედან 99 სული მსხვილფეხა პირუტყვი, 7 ცხვარი და თხა, 1 ცხენი და 1 ღორი. დაავადებული ცხოველების ყველა შემთხვევა დასრულდა ლეტალური გამოსავლით.

ჯილეხზე არაკეთილსაიმედოა საქართველოს მოსაზღვრე ქვეყნები, რომელიც დაავადების აღმძვრელის შემოტანის და გავრცელების საშიშროებას წარმოეადგენს. ყოველივე ეს საქართველოს სატრანზიტო და აბრეშუმის გზას უქმნის პრობლემას. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჯილეხის საწინააღმდეგო ბრძოლის ღონისძიებების გატარება მოითხოვს კომპლექსურ მიდგომას, რომლის ერთ–ერთ ძირითად რგოლს წარმოადგენს აღმძვრელის უმოკლეს დროში ინდიკაცია გარემოსა და ბიოლოგიურ ობიექტებში, მათ შორის პათოლოგიურ მასალასა და ტყავ–ბეწვეულში.

დაავადების გავრცელების ინტენსივობა მოითხოვს სწრაფი, მარტივი და ეკონომიკურად ხელმისაწვდომი კვლევების ჩატარების აუცილებლობას. ჯილეხის სადიაგნოსტიკო თანამედროვე მეთოდები: პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, კონკურენტული იმუნოფერმენტული ანალიზი, იმუნო–ფლუორესცენტული მეთოდი მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით ძვირადღირებული, შრომატევადი და ნაკლებად გამოსადეგია სინჯების რეტროსპექტული გამოკვლევებისათვის. მათი გამოყენება საკმაოდ დიდ ხარჯებთანაა დაკავშირებული. ამიტომ, დღეს უაღრესად აქტუალურია მაღალმგრძნობიარე, სპეციფიკური და ეკონომიკურად გამართლებული სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის შემუშავება.

ჯილეხის დაავადების აღმოცენების და ინფექციის გავრცელების აქტუალობიდან გამომდინარე ნაშრომის მიზანს წარმოადგენს, წყლებში, ნიადაგში, ტყავ–ბეწვეულში და სხვა ობიექტებში ჯილეხის აღმძვრელის სწრაფი

ინდიკაციისათვის გაუმჯობესებული სადიაგნოსტიკო სეროლოგიური ტესტ–სისტემის შემუშავება, გამოცდა და დანერგვა.

აღნიშნულის გათვალისწინებით, კვლევები მოიცავდა შემდეგი ამოცანების გადაწყვეტას:

1. საქართველოში 2001-2015 წწ. ჯილეხის ეპიდემიოლოგიური სიტუაციის შესწავლას;
2. ჯილეხის სავაქცინე შტამების (,,სტი'', 34F_2) და ბაცილების გვარში შემავალი სახეობების (Bac. cereus, Bac. megatherium, Bac. mesentericus, Bac. subtilis, Bac. mycoides) სტაბილურობის დასადგენად ძირითადი ნიშან-თვისებების შესწავლას.
3. გაუმჯობესებული სეროლოგიური ტესტ-სისტემის შემუშავებას და მის გამოყენებას პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში;
4. ჯილეხის სადიაგნოსტიკო გაუმჯობესებული ტესტ-სისტემის მგრძნო-ბელობის და სპეციფიკურობის შესწავლას;
5. ,,სტი'' (სანიტარიულ-ტექნიკური ინსტიტუტი) ვაქცინით და ბაცილების გვარის სახეობებით ხელოვნურად კონტამინირებული მდინართა წყლების, ნიადაგისა და ტყავ-ნედლეულის სინჯების გამოკვლევას.
6. გაუმჯობესებული ტესტ–სისტემის გამოყენებას „სტი“ ვაქცინით ხელოვნურად დაინფიცირებულ თეთრ თაგვებზე;
7. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის (პჰრ) გამოყენებას, მდინარეთა წყლებში, ნიადაგში და ტყავ-ნედლეულში Bac. anthracis სწრაფი ინდიკაციისათვის.

ჩვენს მიერ მოძიებულ მასალაზე დაყრდნობით 2001-2015 წლებში ჯილეხით ადამიანების დაავადების შემთხვევათა რაოდენობამ 812 შეადგინა. განსაკუთრებით მაღალი მაჩვენებელია 2012-20013 წლებში (142-143 შემთხვევა), ხოლო 2002-2005 წლებში შემთხვევათა მინიმალური რაოდენობაა აღრიცხული (15-19 შემთხვევა).

2000-2011 წწ. ჯილეხით დაავადებული ცხოველების რაოდენობამ კი 108 სული შეადგინა. ყველა შემთხვევაში ლეტალური გამოსავლით. ცალკეული სახეობის სასოფლო–სამეურნეო ცხოველების ჯილეხით დაავადების შემთხვევები შემდეგი სტატისტიკით არის წარმოდგენილი: 99 სული მსხვილფეხა პირუტყვი, 7 ცხვარი და თხა, 1 ცხენი და 1 ღორი.

ჯილეხის გავრცელების მაქსიმალური რაოდენობა დაფიქსირდა 2000 წელს – 15, 2008 წელს -12 და 20011 წელს -18 შემთხვევა. დაავადების გავრცელების კეთილსაიმედობის თვალსაზრისით გამონაკლისია 2002 წელი, როდესაც სასოფლო-სამეურნეო ცხოველებში ჯილეხის შემთხვევა არ არის რეგისტრირებული. უნდა აღინიშნოს, რომ ოფიციალური მონაცემების მიხედვით 2002 წელს, ცხოველთა ავადობის მონაცემები საგრძნობლად ჩამორჩება ანალოგიურ მაჩვენებელს ადამიანთა შორის, მაგალითად, ქვემო ქართლი, იმერეთი, სამეგრელო. ამ პერიოდში ჯილეხის შემთხვევა ცხოველებში არ გვხვდება, ხოლო ადამიანების დაავადების 15 შემთხვევაა რეგისტრირებული.

ჯილეხის ეპიზოოტოლოგიაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა ახლად აღმოცენებულ მანიფესტურ კერებს ენიჭება. ჩვენს მიერ მოძიებულ მასალაზე დაყრდნობით, საქართველოში ახლადაღმოცენებული კერების რაოდენობა ანუ კერების, რომლებიც საერთოდ არ ყოფილა აღწერილი, 22-ია. ახლადაღ-მოცენებული კერების უმეტესობა აღმოსავლეთ საქართველოზე მოდის (16), შედარებით ნაკლები – დასავლეთ საქართველოზე (6). არაკეთილსაიმედო რაიონებს მიეკუთვნება: ახალქალაქის, ბოლნისის, გარდაბნის, გალის, დუშეთის, ზუგდიდის, თეთრიწყაროს, თიანეთის, მარნეულის, ნინოწმინდის, საგარეჯოს, სამტრედიის, ყაზბეგის, ცაგერის, წალკის და წყალტუბოს რაიონები.

ცნობილია, რომ ჯილეხის აღმძვრელის განვითარებაზე გავლენას ახდენს რიგი ფაქტორები, მათ შორის მნიშვნელოვანია წყალბადიონთა კონცენტრაცია (pH). ამ მიზნით კვლევის პროცესში მოვახდინეთ გამოსაკვლევი წყლის და ნიადაგის ნიმუშების pH-ის განსაზღვრა .

კვლევის შედეგების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ აღმოსავლეთ საქართველოში არაკეთილსაიმედო პუნქტების სიმრავლეს დასავლეთ საქართველოსთან

შედარებით განაპირობებს მეცხოველეობის განვითარება, ჰუმუსით მდიდარი ნიადაგების არსებობა და ნიადაგის სუსტი ტუტე რეაქცია, რომელიც ჩვენს მიერ შესწავლილ გარდაბნის, ქარელის, ახალციხის და სხვა რაიონებში pH–7.6–8.6 ფარგლებშია და წარმოადგენს მიკრობის ხანგრძლივად ვეგეტირებისა და შესაბამისად პერსისტენციის ხელშემწყობ პირობას.

ჯილეხის ისევე როგორც სხვა ინფექციური დაავადების დროული და სწორი მკურნალობის ჩატარება, მოითხოვს აღმძვრელის სწრაფ ინდიკაციასა და იდენტიფიკაციას. სამედიცინო პრაქტიკაში დანერგილი სეროლოგიური მეთოდით, ერძოდ პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია, დროის უმცირეს მონაკვეთში (1-3 საათში) შესაძლებელს ხდის ჯილეხის აღმძვრელის ინდიკაციას ტყავ-ბეწვეულსა და გარემო არის ობიექტებში.

რეაქციაში, ჯილეხის გაუმჯობესებული იმუნოგლობულინური ერით-როციტული, სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის შემუშავება, მისი სპეციფიკურობის და მგრძნობელობის დადგენა საჭიროებს სტანდარტული, მყარი, სტაბილური ნიშან-თვისებების მქონე ეტალონური შტამების არსებობას. ლაბორატორიული შტამები გარკვეული ხანგრძლივი დროის განმავლობაში განიცდიან მორფოლოგიურ, კულტურალურ და სხვა ნიშან-თვისებათა ცვლილებას, რაც მათ გამოუსადეგარს ხდის სადიაგნოსტიკო პრეპრატის დამზადების თვალსაზრისით. ამ მიზნით კვლევებში გამოვიყენეთ ჯილეხის სავაქცინე „სტი“ და $34F_2$ შტამები, აგრეთვე ბაცილების გვარში შემავალი შემდეგი სახეობის მიკროორგანიზმები: Bac. cereus, Bac. megatherium; Bac. subtilis, Bac. mycoides და Bac. Mesentericus .

კვლევის შედეგები ცხადყოფს, რომ ჩვენს მიერ გამოყენებული ჯილეხის სავაქცინე შტამები ,,სტი'' და 34 F_2, აგრეთვე Bacillus გვარში შემავალი შტამები სტაბილური ნიშან–თვისებების მქონე მიკროორგანიზმებია. მათ ახასიათებთ ტიპური ზრდა ბულიონსა და აგარზე, კაფსულას არ გამოიმუშავებენ, წარმოქმნიან სპორას, იძლევიან R და RO ფორმის კოლონიებს, მათთვის დამახასიათებელია არაჰემოლიზურობა, ,,მარგალიტის ყელსაბამის'' ფენომენი. ჯილეხის სავაქცინე შტამები „სტი“, $34F_2$ მგრძნობიარეა პენიცილინის,

ტრიმეტოპრიმის და დოქსიციკლინის მიმართ /4+/, ხოლო რეზისტენტული პოლიმიქსინისა და ბაქტრიმფორტესადმი. საპირისპირო აღმოჩნდა ბაცილების სხვა სახეობათა ანტიბიოტიკომგრძნობელობა. Bac. subtilis და Bac. cereus მაღალმგრძნობიარე აღმოჩნდა ბაქტრიმფორტეს, პენიცილინისა და დოქსიციკ-ლინის მიმართ. ანალოგიური აღმოჩნდა Bac. megatherium პენიცილინისა და დოქსიციკლინის მიმართ. პოლიმიქსინისა და სულფანილამიდური პრეპარატის – სულფადიმეზინის მიმართ კი რეზისტენტული.

ცდის შედეგები გვიჩვენებს, რომ ჯილეხის სავაქცინე შტამების ,,სტი'' და $34F_2$ მაღალი მგრძნობელობა ახასიათებთ გამა– და Fah – ფაგებისადმი, რაც ლიზისის ხარისხში აისახა, ხოლო ჩვენს ექსპერიმენტში გამოყენებული ბაცილების გვარში შემავალი მიკრობები აღნიშნული ფაგების მიმართ რეზისტეტნულია.

ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის დამზადების საწყისი ეტაპი ჩვენს ცდებში მოიცავდა მაღალი ტიტრის საპრეციპიტაციო შრატის შერჩევას. ეს უკანასკნელი აუცილებელი წინაპირობაა იმისათვის, რომ ზუსტად ვიცოდეთ რამდენად მაღალია შრატის აქტივობა. ამ მიზნით პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით (ჯილეხის ანტიგენური დიაგნოსტიკუმის გამოყენებით) გამოკვლევებში გამოვიყენეთ კომერციული: უკრაინისა (სერია №2 2008) და რუსეთის ფედერაციაში (სერია №72, 2009 და სერია №67, 2010) დამზადებული ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატები.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით გამოკვლეული სამი საპრეცი-პიტაციო შრატიდან ყველაზე მაღალი აქტივობით გამოირჩეოდა უკრაინული წარმოების საპრეციპიტაციო შრატი (სერია–2), რომელშიც ჯილეხის საწინააღმდეგო ანტიბაქტერიული ანტისხეულების ტიტრმა (პჰრ-ში) შედგინა - 1:100.000, ანუ ამ განზავებაში მივიღეთ დადებითი შედეგი, რაც მნიშვნელოვნად აღემატება დანარჩენ შრატებში ანტისხეულების შემცველობას. დადგენილია, რომ მაღალტიტრიანი შრატებიდან მიღებული იმუნოგლობულინით დამზადებული სადიაგნოსტიკო პრეპარატი უფრო მგრძნობიარეა.

აღნიშნული საპრეციპიტაციო შრატებიდან გლობულინის მიღება განხორციელდა სპირტული მეთოდით, მეთანოლის გამოყენებით (Dubert at al.1953). ნარჩენი სპირტისა და სხვა დაბალ მოლეკულური მინარევების მოსაცილებლად იმუნოგლობულინური ხსნარის გაწმენდას ვაწარმოებდით დიალიზით (სადიალიზო პარკის ფორების ზომა შეადგენდა 10,000 კილოდალტონს). პრეპარატის სპეციფიკურობის ასამაღლებლად ვახდენდით ნედლეულის – ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატის ადსორბციას Bacillus-ს გვარის სახეობების B.cereus და B.megatherium-ს გამოყენებით. კულტურების ჩამორეცხვის შემდეგ არსებული სიმღვრივის სტანდარტის მიხედვით ვამზადებდით თანაბარი მოცულობის 2 მლრდ/მლ კონცენტრაციას. შრატის ყოველ 1 მლ-ს ვამატებდით ბაქტერიული სუსპენზიის 0.1 მლ, შენჯღრევის შემდეგ ვდგამდით თერმოსტატში 15-20 წუთი 37°C-ზე. ადსორბციის შემდეგ სუსპენზიას ვაცენტრიფუგირებდით 6000 ბრ/წთ 20 წთ განმავლობაში, შემდეგ შრატს ვფილტრავდით სასტერილიზაციო ფილტრში – millipore (ფორის ზომა - 0,22 μm).

მაღალმგრძნობიარე, აქტიური სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის მომზადების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ეტაპი არის ადსორბენტის (ერითროციტები) სტაბილიზაციის მეთოდის შერჩევა. ამ მიზნით ჩვენს ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ ერითროციტების ფორმალდეჰიდით დამუშავების სხვადასხვა მეთოდი.

Csizmas მეთოდით დამუშავებული ერითროციტების გამოყენებით აღმოჩენილ მიკრობთა რაოდენობა 400 ათასს (3+) შეადგენს, Меньшов, Шмутер 1978-ის მეთოდით 100 ათასს, ხოლო Маянский с соавт. (1968) მეთოდით კი შესაძლებელი გახდა 25 ათასი მიკრობის აღმოჩენა. მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით გამოვლინდა, რომ Маянский с соавт. მიერ შემუშავებული მოდიფიცირებული მეთოდი უზრუნველყოფს ჯილეხის მაღალმგრძნობიარე, სპეციფიკური ტესტ-სისტემის მიღებას.

დიაგნოსტიკუმის დასამზადებლად ფორმალინიზირებულ ერითროციტებს ვრეცხავდით ნატრიუმის ქლორიდის 0.9 %-ანი ხსნარით და ვახდენდით

რესუსპენდირებას ამავე ხსნარით (pH=7.0-7.2) და ვამზადებდით ერითროციტების 2,5%-იან შენაწონს. აღნიშნულ სუსპენზიაში ერითროციტების რაოდენობა შეადგენდა 5-6X10^5 უჯრედს. მზა პრეპარატის სპეციფიკურობის და მგრძნობელობის ამაღლების მიზნით (ერითროციტების ზედაპირიდან ცილოვანი და სხვა არასპეციფიკური ნაერთების მოსაცილებლად), 5 მილილიტრ 2,5%-იან სუსპენზიას ვამატებდით ორქრომმჟავა კალიუმის ($K_2CR_2O_7$) სხვადასხვა განზავების (1:1000; 1:5000; 1:20 000) თანაბარ მოცულობას და ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C 20 წუთის განმავლობაში. კალიუმის ბიქრომატით დამუშვებულ ერითროციტებს ვრეცხავდით ნატრიუმის ქლორიდის 0.9%-იანი სხნარით და ვამზადებდით 2,5%-იან სუსპენზიას. სპეციფიკურობის და მგრძნობელობის თვალსაზრისით საუკეთესო შედეგი მიღებულ იქნა ფორმალინიზირებული ერითროციტების კალიუმის ბიქრომატით 1:5000-ზე განზავებით დამუშავების შემთხვევაში.

ადსორბციული თვისებების გაუმჯობესების მიზნით, ერითროციტების 2,5% სუსპენზიის 5 მლ ვამატებდით ტანინის მჟავას (კონცენტრაცია 2,0X10^4) თანაბარი მოცულობით და ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C 20 წთ განმავლობაში, შემდეგ 2-ჯერ ვრეცხავდით 1/15 M ფოსფატის ბუფერით pH=7,2 და ერთხელ 1/15 M ფოსფატის ბუფერით pH=6,4. ჩამორეცხილი ერითროციტების რესუსპენზირებას ვახდენდით ნატრიუმის ქლორიდის 0.9%-იანი ხსნარით 2,5%-იან კონცენტრაციამდე და ვამატებდით სენსიტინს-ჯილეხის საწინააღმდეგო იმუნოგლობულინს.

სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემების დამზადების პროცესში განსაკუთ-რებული მნიშვნელობა ენიჭება ფორმალინიზირებული და კალიუმის ბიქრო-მატით დამუშავებული ერითროციტების სენსიბილიზაციას (ანტისხეულებით დატვირთვას). ცილებით ერითროციტების სენსიბილიზაციის პროცესი სენსიტინისა და ადსორბენტის ურთიერთქმედების რთული მექანიზმია, რომლის რაოდენობრივი დახასიათება დღეისათვის ბოლომდე არ არის შესწავლილი. ცნობილია, რომ ოპტიმალური ჰემოსენსიბილიზაცია დამოკიდებულია სენსი-

ტინის კონცენტრაციაზე, სენსიბილიზაციის ხანგრძლივობაზე, სხნარის ტემპერატურაზე, წყალბადიონთა კონცენტრაციაზე (pH) და სხვა.

ტანინის მჟავით (1:20000) დამუშავებული ერითროციტების სენსიბილიზაციას, ჯილეხის საწინააღმდეგო იმუნოგლობულინით ვახდენდით თერმოსტატში 37°C 3-საათის განმავლობაში, სუსპენზიის პერიოდული შენჯღრევით, შემდეგ ნარევი გადაგვქონდა მაცივარში +6 +8 ^{o}C–ზე, 10–16 საათის განმავლობაში. სენსიბილიზაციის დამთავრებამდე ნახევარი საათით ადრე სუსპენზიას ვუმატებდით 1% ფორმალინს, სტაბილიზაციის მიზნით.

იმუნოგლობულინის ოპტიმალური სასენსიბილიზაციო დოზის განსაზღვრას ვაწარმოებდით ექსპერიმენტულად, რისთვისაც ერითროციტების თანაბარ მოცულობაზე (5 მლ) ვიღებდით ჯილეხის იმუნოგლობულინის სხვადასხვა დოზას (ყოველ 1 მლ 2,5 %-ან ერითროციტების სუსპენზიაზე 50 მკგ, 80 მკგ, 150 მკგ და 200 მკგ ცილა). ცდებით დავადგინეთ, რომ იმუნოგლობულინის ოპტიმალური სასენსიბილიზაციო დოზა 150-160 მიკროგრამია. აღნიშნული დოზით დატვირთული ერითროციტები ხასიათდებიან მაღალი მგრძნობელობით, რაც დადასტურდა საკვლევ სუსპენზიაში 20-50 ათასი მიკრობული ერთეულის აღმოჩენით (ჯილეხის ,,სტი'' ვაქცინა).

შემუშავებულ სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემით შესაძლებელია 20-50 ათასი „სტი“ სავაქცინე შტამის, 34F$_2$ და Ikhtiman -ის მიკრობული ვეგეტატიური უჯრედის, და 40–50 ათასი „სტი-1“ სპორის აღმოჩენა. შემოთავაზებული სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის აუღრესად დადებით მხარედ შეიძლება ჩაითვალოს ის ფაქტი, რომ ის უარყოფით შდეგებს იძლევა B.cereus-ს გვარის მიკრობებთან, რაც ადასტურებს ტესტ-სისტემის სპეციფიკურობას.

შემუშავებული სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემის შედარებითმა შეფასებამ აჩვენა მისი მაღალი მგრძნობელობა. ცდებმა დაადასტურა, რომ ჩვენს მიერ შემუშავებული ტესტ-სისტემა თავისი აქტივობით 10-ჯერ აღემატება არსებულ ანალოგიურ პრეპარატს .

ამრიგად, ჩატარებულ სამუშაოს თუ შევაჯამებთ შეიძლება ითქვას, რომ შემუშავებულია ახალი სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემა (კიტი), ჯილეხის

ერითროციტული იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმი, რომელიც ხასიათდება მაღალსპეციფიკურობით და მგრძნობელობით. შემუშავებული სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის დანიშნულებაა ჯილეხის გამომწვევის აღმოჩენა პათოლოგიურ მასალაში, მათ შორის ტყავ–ნედლეულში და ჯილეხზე საეჭვო გარემო არის ობიექტებში. ტესტ–სისტემა საშუალებას იძლევა ერთდროულად მრავალ ათეულ სინჯს ჩაუტარდეს რეტროსპექტული ანალიზი B. anthracis გამოსავლენად.

სადიაგნოსტიკო პრეპარატის ვადის გახანგრძლივების და სტაბილურობის შენარჩუნების მიზნით ვაწარმოებდით მის ლიოფილიზაციას ჟელატოზა–საქაროზას ნიადაგში (5% ჟელატინი, 7% საქაროზა). არნიშნულ ნიადაგში გახსნის შემდეგ ნახევარ ფაბრიკატს ვყინავდით –40–45°C–ზე. შრობა მიმდინარეობდა შემდეგ რეჟიმში: საწყისი ტემპერატურა საშრობ აპარატში იყო 16–20°C, ვაკუუმი 20–30x10^3 მმ სინდიყის სვეტის, შემდეგ ტემპერატურა იმატებდა 6–8 საათის განმავლობაში +2 +4°C –ით, ბოლოს ტემპერატურა იწევდა 25–28°C, 10–12 სათის განმავლობაში.

მშრალი სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის სპეციფიკურ აქტივობას ვამოწმებდით ლიოფილიზაციიდან ყოველ 6 თვეში. შემოწმებამ გვიჩვენა, რომ პრეპარატი აქტივობას ინარჩუნებდა 2 წლის განმავლობაში. აქედან გამომდინარე შეიძლება ითქვას, რომ აღნიშნული ტესტ–სისტემის ვარგისიანობის ვადაა 2 წელი.

ნიადაგსა და წყალში გავრცელებული Bacillus-ის გვარის მიკრობები ხასიათდებიან (Bac. subtilis, Bac. megaterium, Bac. mesentericus, Bac. mycoides, Bac. cereus), ანტიგენური მსგავსებით, ჯილეხის აღმძვრელთან. ეს კი გვაძლევს საკვლევ ობიექტებზე პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში მივიღოთ დადებითი, არასპეციფიკური, ცრუ შედეგი.

აღნიშნულის გათვალისწინებით შემოთავაზებული ტექნოლოგიით მიღებული ტესტ-სისტემა დამატებით შესწავლილ იქნა სპეციფიკურობაზე ხელოვნურად კონტამინირებულ გარემო არის ობიექტებში: ნიადაგი, წყალი, ტყავ-ნედლეული.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის პარალელურად ასკოლის რეაქციით მოვახდინეთ „სტი“ სავაქცინე შტამით ხელოვნურად კონტამინირებული ტყავისა და ნიადაგის ნიმუშების გამოკვლევა.

მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ბაცილების სახეობებით კონტამინირებული ნიადაგის ნიმუშების აღნიშნულ რეაქციაში გამოკვლევისას, ყველა შემთხვევაში შედეგები აღმოჩნდა უარყოფითი, რაც ნათლად ადასტურებს გამოყენებული ტესტ-სისტემის სპეციფიკურობას (პჰრ). პრეციპიტაციის რეაქციის დროს შედეგების აღრიცხვისას B. cereus –მა მოგვცა დადებითი შედეგი.

შემდეგ ეტაპზე გამოკვლეულ იქნა, ჩვენს მიერ შემუშავებული ტესტ–სისტემის მგრძნობელობა. ამ მიზნით ავიღეთ ხელოვნურად კონტამინირებული შემდეგი ნიმუშები: ნიადაგი, წყალი, ტყავ–ბეწვეული. ნიმუშებში შეტანილ იქნა განსაზღვრული რაოდენობის „სტი“ ვაქცინის სპორა.

ჩვენს მიერ შემუშავებული ტესტ–სისტემით ჩატარებული რეაქციით მიღებული შედეგების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ აღნიშნულ ობიექტებში შეიძლება აღმოჩენილ იქნას საძიებელი სავაქცინე შტამის მინიმალური რაოდენობა -20-50 ათასი მიკრობული სხეული, ხოლო წყალში -10 ათასამდე მიკრობი (დადებითი რეაქციის დროს პენოპლასტის ფოსოებში ნალექი დალექილია ქოლგისებურად). სინჯებში, სადაც იყო განთესილი Bacillus–ს გვარის ზემოთ ჩამოთვლილი მიკროორგანიზმები, ყველგან მიღებულ იქნა უარყოფითი შედეგი. ანალოგიური შედეგი დაფიქსირდა ასკოლის, ანუ პრეციპიტაციის რეაქციის შედეგების აღრიცხვისას.

მიღებულმა შედეგებმა ცხადყო, რომ ასკოლის რეაქციით შესაძლებელია 2 მილიონი და უფრო მეტი მიკრობული უჯრედის აღმოჩენა.

სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემის მგრძნობელობა (სპეციფიკური აქტივობა) შესწავლილ იქნა თეთრ თაგვებზე, რომელთა ცოცხალი მასა იყო 18–20 გრ. წინასწარ (48სთ ადრე) ცხოველები ინტრაპერიტონეალურად დავასნებოვნეთ ჯილეხის სავაქცინე შტამის ($34F_2$) ერთი მილიონი ($1,0x10^6$) კოლონიაწარმომქნელი ერთეულით. ვაქცინის შეყვანიდან 6 საათის შემდეგ, ცხოველებს ინტრაორბი-ტალურად პასტერის პიპეტით ავუღეთ სისხლი და გამოვყავით შრატი.

მოვახდინეთ კომპლემენტის ინაქტივაცია, რისთვისაც შრატი გავათბეთ 56^{0}C–ზე, ჰემაგლუტინინების მოსაცილებლად შრატის ადსორბცია მოვახდინეთ იმავე სერიის ერითროციტებით, რაც გამოვიყენეთ დიაგნოსტიკუმის დასამზადებლად.

ცდებით დავადგინეთ, რომ დადებითი შედეგი, ანუ ვაქცინა აღმოჩენილ იქნა ცხოველების შრატის, ღვიძლის, ფილტვის და ელენთის გამოკვლევისას, რაც ადასტურებს სავაქცინე შტამის არსებობას აღნიშნულ ორგანოებში.

უარყოფითი პასუხი მიღებულ იქნა თირკმლის გამოკვლევისას. მიღებული შედეგი გვიჩვენებს, რომ ჩვენს მიერ შემუშავებული გაუმჯობესებული ტესტ–სისტემის გამოყენება მიზანშეწონილია ჯილეხზე საეჭვო ცხოველების გამოსაკვლევად.

კონტორლის მიზნით გამოვიკვლიეთ ჯანმრთელი ცხოველების ანალოგიური ორგანოების ნიმუშები. ყველა შემთხვევაში მიღებული იქნა უარყოფითი შედეგი.

სადისერტაციო თემით გათვალისწინებული კვლევითი სამუშაოების შემდეგი ეტაპი ითვალისწინებდა, ტყავ-ნედლეულში, ნიადაგსა და წყალში Bac. anthracis სწრაფ ინდიკაციას.

ცდების პროცესში პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით, ბაქტერიოლგირი გამოკვლევით და ასკოლის რეაქციის გამოყენებით კვლევებში გამოვიყენეთ 130 მსხვილფეხა პირუტყვის ტყავის, 19 მდინარის და ჯილეხზე საეჭვო 391 ნიადაგის ნიმუში.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის პარალელურად ტყავის სინჯებს ვიკვლევდით ვეტერინარულ პრაქტიკაში დანერგილი პრეციპიტაციის (ასკოლის) რეაქციით.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში, დიაგნოსტიკუმად გამოვიყენეთ კომერციული (რუსული წარმოების ჯილეხის იმუნოგლობულინური ერითროციტული დიაგნოსტიკუმი) და ჩვენს მიერ შემუშავებული ჯილეხის სადიაგნოსტიკო ტესტ-სისტემა. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია დავდგით

მაკრო – და მიკრო მეთოდით. მიკრომეთოდისათვის გამოვიყენეთ ტაკაჩის აპარატი.

ჩვენს მიერ გამოკვლეული 130 მსხვილფეხა პირუტყვის ტყავის ნიმუშებიდან ყველა შემთხვევა აღმოჩნდა უარყოფითი (კეთილსაიმედო).

პარალელურად ვდგამდით კონტროლებს (დიაგნოსტიკუმის, ანტიგენის, გამოსაკვლევი ექსტრაქტის, განმაზავებელი სითხის). ფირფიტას ფრთხილად ვანჯღრევდით ინგრედიენტების შერევის მიზნით.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის მსვლელობას ვახდენდით კლასიკური მეთოდით. მიღებული შედეგებიდან 391 ნიადაგის სინჯიდან 371 აღმოჩნდა უარყოფითი, 18 დადებითი.

ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევის შემთხვევაში 375 უარყოფითი, ხოლო 16 დადებითი შედეგი მივიღეთ.

წყლის ნიმუშების გამოკვლევის შედეგად აღმოჩნდა, რომ 19 სინჯიდან 18 უარყოფითია, 1 დადებითი. ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევისას 19 უარყოფითი.

დღეისათვის, პრეციპიტაციის რეაქცია ძირითადად გამოიყენება ტყავ-ნედლეულსა და მკვდარი ცხოველების შინაგანი ორგანოების (ელენთა, ღვიძლი, გული) ჯილეხზე გამოსაკვლევად.

პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით 1,5-3 საათის განმავლობაში აღმოჩენილი ვეგეტატიური ფორმების რიცხვი იყო 20 ათასი მიკრობი /მლ-ში, ხოლო სპორებისა 40 ათასი მიკრობი /მლ-ში.

დასკვნები

1. საქართველოში ჯილეხის ახლადაღმოცენებული უცნობი კერების რაოდენობამ, (2000-2011 წწ) 22 შეადგინა, მათ შორის 16 აღმოსავლეთში, ხოლო 6 დასავლეთ საქართველოში. ჯილეხზე განსაკუთრებით არაკეთილსაიმედო რეგიონებია: კახეთი (დედოფლისწყაროს რაიონი, საგარეჯოს რაიონი). ქვემო ქართლი (გარდაბნის რაიონში 12 არაკეთილსაიმედო პუნქტია). იმერეთი (თერჯოლის რაიონი 5 არაკთილსაიმედო პუნქტი, სამტრედია – 3; ბაღდადი – 3 წყალტუბო – 4). შედგენილია საქართველოში ჯილეხის ახლადაღმოცენებული კერების რუკა.
2. შემუშვებულია ახალი ეფექტური სადიაგნოსტიკო სტანდარტული ტესტ–სისტემა – ჯილეხის იმუნოგლობულინური (ანტისხეულური) ერითროცი-ტული თხიერი (მშრალი) დიაგნოსტიკუმი ტყავ–ნედლეულში, პათმასალაში (სისხლის შრატი, შინაგანი ორგანოები) და გარემო არის ობიექტებში (ნიადაგი, წყალი და სხვა) ჯილეხის აღმძვრელის გამოსავლენად.
3. სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტმის სპეციფიკურობის და მგრძნობელობის ასამაღლებლად, არასპეციფიკური ანტისხეულების მოსაცილებლად ჯილეხის საწინააღმდეგო ჰიპერიმუნური შრატის ადსორბცია პირველად განხორციელდა B. cereus და B. megatheriumis 18-20 საათიანი კულტურათა სუსპენზიით. შემუშავებულია სპირტული მეთოდით ჰიპერიმუნური შრატიდან იმუნოგლობულინური ფრაქციის მიღების ოპტიმალური პირობები იმუნოგლობულინის ოპტიმალური სასენსიბილიზაციო დოზა 150-160 μg ცილაა, ერითროციტების 5 მლ 2,5 %–იან სუსპენზიაზე.
4. მოდიფიცირებული ტესტ–სისტემის გამოყენებით პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში 1,5-3 საათის განმავლობაში აღმოჩენილი ჯილეხის ვეგეტატიური ფორმების რიცხვმა შეადგინა 20-50 ათასი მლ-ში, ხოლო სპორებისა 40 ათასი მლ-ში. რაც 10-ჯერ აღემატება არსებულ სადიაგნოსტიკო პრეპარატს.

5. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია მგრძნობელობით საგრძნობლად აღემატება პათმასალას, ტყავ-ნედლეულსა და გარემოს ობიექტებში, Bac. anthracis ინდიკაციისათვის დანერგილ პრეციპიტაციის რეაქციას.
6. შემუშავებული ტესტ–სისტემა (Bac. anthracis ინდიკაცია) საშუალებას იძლევა გამოირიცხოს ტყავის ქარხნების, სამშენებლო და სამელიორაციო სამუშოებში დასაქმებული პერსონალის ჯილეხით დაავადება და დროულად გატარდეს ეპიდსაწინააღმდეგო ღონისძიებები.

პრაქტიკული წინადადებები

ჩატარებული სამუშაოების შედეგებიდან გამომდინარე მედიცინასა და ვეტერინარიის ლაბორატორიულ პრაქტიკას ვთავაზობთ:

1. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციის დასადგმელად მარტივ, სპეციფიკურ და მაღალმგრძნობიარე, სტანდარტულ სადიაგნოსტიკო ტესტ–სისტემას.
2. პრევენციული ღონისძიებების ჩასატარებლად ახლადჩამოყალიბებული, დღემდე უცნობი არაკეთილსაიმედო კერების რუკას. ჯილეხის აღმძვრელის გაუვნებელსაყოფად (სადეზინფექციო საშუალებების გამოყენების ეფექტურობის მიზნით) არაკეთილსაიმედო კერების (ნიადაგი, წყალი) წყალბადიონთა კონცენტრაციის მაჩვენებლებს.
3. ტყავ–ნედლეულში და გარემოს ობიექტებში პჰრ Bac. anthracis ინდიკაციის სპეციფიკურ და მაღალმგრძნობიარე ტესტ–სისტემას, რომელიც მინიმალურ დროში (1,5–3 სთ), აღმძვრელის აღმოჩენის დიაგნოზის დასმის საშუალებას იძლევა.

ინსტრუქცია

ჯილეხის გაუმჯობესებული თხიერი, ერითროციტარული, დიაგნოსტიკუმის გამოყენებაზე.

1. ბიოლოგიური თვისებები და დანიშნულება

ერითროციტალური დიაგნოსტიკუმი ჯილეხის იმუნოგლობულინებით სენსიბილიზირებული ცხვრის ფორმალიზინირებული და ლიოფილიზირებული ერითროციტების 2,5 % -იანი (მშრალი -10%) შენაწონია.

ერითროციტალური იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმი გამოიყენება არაპირდაპირ (პასიური) ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში (ა.ჰ.რ) ჯილეხის აღმძვრელის სპოროვანი და ვეგეტატიური ფორმების აღმოსაჩენად (პათოლოგიური მასალა, ნიადაგი, წყალი, ტყავ-ნედლეული. მიკრობთა კულტურები, საკვების ნიმუშები და სხვა).

ერითროციტარული, იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმი უნდა იძლეოდეს დადებით რეაქციას ჯილეხის მიკრობის სპოროვან და ვეგეტატიურ ფორმებთან (10^4-10^5) მიკრობული უჯრედი /მლ). Bac. cereus და ბაცილების გვარში შემავალი სხვა მონათესავე მიკრობებთან (1.10^8 მიკრობული უჯრედი /მლ) რეაქცია უარყოფითია.

არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქციის სპეციფიკურობის დასაზუს-ტებლად პარალელურად დგამენ არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის შეკავების რეაქციას

2. პრეპარატების გამოშვების ფორმა და ინგრედიენტების მომზადება

სადიაგნოსტიკო ნაკრები დაფასოებულია მუყაოსაგან დამზადებულ კოლოფებში და თან ერთვის ინსტრუქცია.

2.1. ჯილეხის ერითროციტარული, იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმი-5 ამპულა. თითოეული ამპულა შეიცავს 1 მლ გამშრალ, ფორმალინიზირებულ და

იმუნოგლობულინით სენსიბილიზირებულ ცხვრის ერითროცოტების 10%-ან შენაწონს. დიაგნოსტიკუმს აქვს ფოროვანი, მოყავისფრო ტაბლეტის ფორმა. დიაგნოსტიკუმი რეაქციაში გამოიყენება 2,5 %-ან კონცენტრაციაში. რეაქციის დასადგმელად ამპულის შიგთავსს ხსნიან 4 მლ NaCl-ის 0,9 %-იან ხსნარში (pH7,2). დიაგნოსტიკუმი იხსნება ერთ წუთში და იძლევა ყავისფერ შენაწონს. თხიერი პრეპარატი +6 +8^{0}C შენახვისას გამოსაყენებლად ვარგისია 24 სთ განმავლობაში.

2.2. ცხვრის ფორმალინიზირებული ერითროციტების 50 %-ანი შენაწონი -1 ამპულა. ამპულაში 2 მლ პრეპარატია, რომელიც გამოიყენება ბოცვრის ნორმალურ სისხლის შრატში ჰემაგლუტინინების ადსორბციისათვის.

2.3. ვაქცინა „სტი“ სპორების ინაქტივირებული შენაწონი – 1 ამპულა. ამპულაში 2 მლ შენაწონია (10 სპორა).

2.4 ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატი – 1 ამპულა. ამპულაში 4მლ, 1:10 განზავებული შრატია. რეაქციის დადგმის წინ შრატს აცხელებენ 56-C°, 30 წუთის განმავლობაში.

2.5 ბოცვრის ნორმალური შრატი. (მზადდება ადგილზე). ბოცვერს გულიდან უღებენ სისხლს და გამოყოფენ შრატს. შრატის ყოველ 1 მლ უმატებენ 0,2 მლ ცხვრის ფორმალინიზირებული ერითროციტების 50%-ან შენაწონს, გულდასმით ურევენ და ათავსებენ თერმოსტატში 37°C. ინკუბაციიდან 30 წთ შემდეგ აცენტრიფუგირებენ 1500 ბრ/წთ, 10 წუთს. გამოყოფილ შრატს აცხელებენ 56- °C, 30 წუთის განმავლობაში. შარტი +4 +8°C. ინახება 1 თვემდე. რეკომენდირებულია შრატის შენახვა საყინულეში, რაც ახანგრძლივებს გამოყენების შესაძლებლობას 6 თვემდე.

ბოცვრის ნორმალური შრატი რეაქციაში გამოიყენება სტაბილიზატორად 0,5 %-იანი ხსნარის სახით. ამ მიზნით 0,5 მლ შრატს აზავებენ 99,5 მლ NaCl-ის 0,9% ან ხსნარში.

3. გამოსაკვლევი მასალის მომზადება

არაპირდაპირ ჰემაგლუტინაციის რეაქციას დგამენ ცხოველის ყურიდან აღებულ სისხლზე, ღორის ლეშიდან აღებულ ყბისქვეშა ლიმფურ კვანძებზე და და

შეშუპებული უბნის შემაერთებელ ქსოვილზე. ცხოველის გაკვეთისას, ჯილეხზე ეჭვის მიტანის შემთხვევაში (სეფსისის ფორმით მიმდინარეობა) გაკვეთას აღარ აწარმოებენ და იკვლევენ შესაბამისი სახეობის ცხოველის ელენთას, ნიადაგს, წყალს და ტყავ-ნედლეულის ნიმუშებს.

3.1 მკვრივი მასალის მომზადება. იღებენ 1,0 გრ-მდე /ნიადაგი, ტყავ-ნედლეული/ სინჯს და სრესავენ სტერილურ როდინში 2მლ NaCl -ის 0,9 % -ანი ხსნარის მიმატებით. უხეში ნაწილების მოცილებისათვის აცენტრიფუგებენ 1500 ბრ/წთ, 5 წთ. ნალექზედა სითხე გადააქვთ სტერილურ, რეზინის საცობიან სინჯარაში.

3.2 თხიერი მასალის მომზადება /სისხლი, წყალი/ სისხლს 0,1_0,5 მლ მოცულობით აზავებენ 1-1,5 მლ NaCl 0,9 %-ან ხსნარში, აცენტრიფუგებენ 1000 ბრ/ წუთში 5 წთ. ნალექზედა სითხე გადააქვთ რეზინის საცობიან სინჯარაში. ჰემაგლუტინინების, კომპლემენტის ინაქტივაციისა და სომატური ანტიგენების ექსტრაქციისათგვის აცხელებენ 100°C 2 სთ განმავლობაში. სრული გაუვნებლობისათვის უმატებენ 4% (საერთოჴმოცულობის) ფორმალინს, ტოვებენ 1 სთ ოთახის ტემპერატურაზე და იკვლევენ რეაქციაში.

4. რეაქციის დადგმა

4.1 არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია. რეაქციას დგამენ პოლისტროლის ფოსოიან ფირფიტებში. პირველი რიგის 12 ფოსოში აწარმობენ 0,25 მლ ბოცვრის 0,5 %-ანი ნორმალური შრატის ან ტვინ 80-ის ჩამოსხმას. პირველ ფოსოში ავტომატური პიპეტით შეაქვთ 0,25 მლ გამოსაკვლევი მასალა, გულდასმით ურევენ და 0,25 მლ გადააქვთ მეორე ფოსოში, მეორედან 0,25 მლ მესამეში და ა. შ. მე-11 ფოსოდან ზედმეტი 0,25 მლ გადააქვთ სადეზიფენქციო ხსნარში. ამრიგად მზადდება გამოსაკვლევი მასალის განზავება 1:2. მე-12 ფოსო საკონტროლოა, მასში გამოსაკვლევი მასალა არ შეაქვთ. პარალელურად ფირფიტის მეორე რიგის ფოსოში, ძირითადი ცდის ანალოგიურად აწარმოებენ ჯილეხის სპორების შენაწონის (108 სპორა/მლ) განზავებას. ორივე რიგის ფოსოებში 1 მლ მოცულობის ავტომატური პიპეტით შეაქვთ თითო წვეთი (0,05 მლ) ჯილეხის

იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმი (წვეთი საჭიროა უშუალოდ ჩაედინოს სითხეში). ფირფიტას ფრთხილად ანჯღრევნ და ათავსებენ თერმოსტატში 37°C, 30 წთ, ხოლო შემდეგ ტოვებენ 22°C, 2 სთ განმავლობაში.

შედეგების შეფასება. დადებითი რეაქციის დროს, გამოსაკვლევი მასალის მაქსიმალურ განზავებაში და სავაქცინე შტამის „სტი“-სპორებთან ერითროციტები დალექილია ქოლგისებრად, რომელიც ფარავს ფოსოს ზედაპირს 2/3-ს. საკონტროლო ფოსოებში და უარყოფითი რეაქციის დროს ერითროციტები დალექილია „ღილისებრად“.

4.2 არაპირდაპირი ჰემ-აგლუტინაციის შეკავების რეაქცია. რეაქციას დგამენ ძირითადი ცდის (4.1) პარარელურად, მისი შედეგების სპეციფიკურობის დასაზუსტებლად. ამ მიზნით პოლისტიროლის ფირფიტის მესამე რიგის ფოსოებში ახდენენ 0,25 მლ ბოცვრის 0,5 %-ანი ნორმალური შრატის ჩამოსხმას და გამოსაკვლევი მასალის თანმიმდევრულ განზავებას 1:2, 0,25 მლ მოცულობაში. თითოეულ ფოსოში უმატებენ 0,25 მლ ჯილეხის საწინააღმდეგო საპრეციპიტაციო შრატს. ფირფიტას ფრთხილად ანჯღრევენ და ტოვებენ თერმოსტატში 37°C, 30 წთ ან ოთახის ტემპერატურაზე 1 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ ფოსოებში შეაქვთ 0,05 მლ (თითო წვეთი) ჯილეხის ერითროციტარული იმუნოგლობულინური დიაგნოსტიკუმი. ფირფიტას ტოვებენ 22°C, 2-3 საათის განმავლობაში.

შედეგების შეფასება. რეაქცია უარყოფითია ან აღინიშნება ერითროციტების შეწებება ძირითად ცდასთან (4.1) შედარებით 4- დან 5- მდე ფოსოთა ნაკლებ რაოდენობაში.

5. მიკრომოცულობითი რეაქციის დადგმა

5.1. არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის რეაქცია. მიკროსატიტრაციო პოლისტიროლის ფირფიტის ფოსოებში ნახევრად ავტომატური პიპეტით 0,025 მლ მოცულობით შეაქვთ 1:100 განზავებული ბოცვრის ნორმალური შრატი. პირველ

და ბოლო ფოსოებში უმატებენ 0.025 მლ 1:5 და 1:10 განზავებულ ინაქტივირებულ გამოსაკვლევ მასალას. შემდგომი ტიტრატორით, რომელიც გაანგარიშებულია 0.025 მლ მოცულობაზე, ახდენენ გატიტვრას ბოლო ფოსომდე. ბოლოსწინა და ბოლო ფოსოდან ზედმეტ 0.025 მლ გადაღვრიან სადეზინფექციო ხსნარში. ამ მიზნით ტიტრატორის ზედა ნაწილით შეეხებიან დასველებულ და გაწურულ ტამპონს; ტიტრატორის თავს მოწვავენ გაზქურის ან სპირტქურის ალზე. ყველა ფოსოში დამატებით შეაქვთ 0.025 მლ რეაქციისათვის განკუთვნილი ხსნარი. ამრიგად პირველ 7 ფოსოში ღებულობენ გამოსაკვლევი მასალის განზავებას 1:10-1:20-დან 1:640-1:1280. შემდეგ პირველ 7 ფოსოში უმატებენ 0,025 მლ სპეციალურად განზავებულ დიაგნოსტიკუმს. მე-8 სინჯარაში შეაქვთ 0,025 მლ იმავე კონცენტრაციის საკონტროლო ერითროციტები. ფირფიტას 1,5 სტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე, რის შემდეგაც აღრიცხავენ შედეგებს. რეაქცია დადებითია ფოსოს ძირზე ერითროციტების თანაბრად დაფენის შემთხვევაში. უარყოფითის დროს ერითროციტები ფოსოს ძირზე დალექილია პატარა ღილის მსგავსად. ერითროციტების ფოსოს ძირზე მარცვლისებურად ნაწილობრივ დაფენის შემთხვევაში რეაქცია საეჭვოა (±).

5.2. არაპირდაპირი ჰემაგლუტინაციის შეკავების რეაქცია. მიკროსატიტრაციო ფირფიტის ფოსოებში ახდენენ 0,025 მლ რეაქციისათვის საჭირო ხსნარის ჩამოსხმას. პირველ ფოსოში შეაქვთ 0,025 მლ იმავე განზავების პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციისათვის საჭირო ინაქტივირებული გამოსაკვლევი მასალა. შემდგომ ყველა ფოსოში უმატებენ 0,025 მლ, 1:10 განზავებულ, ინაქტივირებულ ჯილეხის საპრეციპიტაციო შრატს. ფირფიტას 1 საათის განმავლობაში ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ ყველა ფოსოში უმატებენ 0,025 მლ 0,3%-ის კონცენტრაციის ჯილეხის ანტისხეულურ ერითროციტულ დიაგნოსტიკუმს. რეაქციის შედეგებს აღრიცხავენ დიაგნოსტიკუმის დამატებიდან 1,5 საათის შემდეგ. პასიური ჰემაგლუტინაციის შეკავების რეაქცია უნდა იყოს უარყოფითი.

შენიშვნა: 1. მუშაობის დაწყების წინ აუცილებელია ტიტრატორის „თავების“ მოწვა.

2. ტიტრატორის ავსებისათვის საკმარისია მისი „თავის“ ჩაშვება გამოსაკვლევი სითხის ნახევრამდე.

3. მასალის აღებისა და ტიტრაციისათვის დაუშვებელია ტიტრატორის „თავით“ ფირფიტის ფოსოს კედლებზე შეხება, ვინაიდან შეიძლება სითხის ნაწილი დაიკარგოს.

4. მიკროტიტრატორის გამოყენებისას პოლისტროლის ფირფიტაში რეაქციის დადგმასთან შედარებით ტიტრი რამოდენიმედ დაბალია.

5. უსაფრთხოების წესები

რეაქციის შეფასებისა და აღრიცხვის შემდეგ პოლისტიროლის ფირფიტის ფოსოებში შეაქვთ 0,5 მლ სადეზიფენქციო ხსნარი. აჩერებენ 2-3 სთ.

ფირფიტას გულდასმით რეცხავენ და ამშრალებენ. ფაიფურის როდინს გასრესილი სინჯებით აუვნებლებენ ავტოკლავირებით 1 საათის განმავლობაში 134 °C.

პათოლოგიურ მასალაზე მუშაობისას და რეაქციის დადგმის პროცესში ხელმძღვანელობენ განსაკუთრებით საშიშ ინფექციებზე მუშაობის ინსტრუქციის დაცვით.

6. შენახვის პირობები და ტრანსპორტირება

პრეპარატი ინახება დაკეტილ, მშრალსა და ბნელ საწყობში +4-6°C პრეპარატის ვარგისიანობის ხანგრძლივობა 2 წელია.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. ბაბაკიშვილი ჯ., მამაიაშვილი მ., ცხაკაია თ., კერესელიძე მ. ცხოველთა ინფექციური დაავადებები, თბ.: „კაბადონი“, 2005.
2. ბუბაშვილი მ., რიგვავა ს., ნათიძე მ. ჯილეხის სავაქცინე შტამებით იმუნიზირებულ ცხოველებში მონონუკლეარული ფაგოციტური სისტემის უჯრედების რეაქციის შედარებითი შესწავლა. აგრარული მეცნიერების პრობლემები. სამეცნიერო შრომათა კრებული. IX, თბ.: 2000, გვ. 288–292.
3. დაავადებათა კონტროლის და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი. „ეპიდემიოლოგიური ბიულეტენი“. 2013. ოქტომბერი N 10. ტომი 17.
4. ნათიძე მ., რიგვავა ს., ბუბაშვილი მ. „პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია ჯილეხის საწინააღმდეგო ანტისხეულების განსაზღვრის ექსპრეს მეთოდი“. *„ვეტერინარია“,* 2000, №4-5, გვ. 32-35.
5. ნათიძე მ., რიგვავა ს. Bac. anthracis ეპიზოოტიური შტამების ანტიბიოტიკების და ფაგების მიმართ მგრძნობელობის შესწავლა. საქ. აგრარული უნივერსიტეტი. სამეცნიერო შრომათა კრებული. თბ.: 2009, გვ. 124–126.
6. ნათიძე მ., ონაშვილი თ., რიგვავა ს., ღვალაძე ლ. ჯილეხის ახლად აღმოცენებული კერების ატლასი. თბ.: 2012.
7. ნათიძე მ., რგივავა ს., ღვალაძე ლ., ნათიძე თ. ჯილეხი აქტუალობა და პრობლემები. თბ.: 2008.
8. ნათიძე მ., რიგვავა ს., მაკარაძე ლ. ფაგის ტიტრის ზრდის რეაქციის მგრძნობელობის დამოკიდებულება წყლის pH–ის მერყეობაზე. საქ. აგრარული უნივერსიტეტის სამეცნიერო შრომათა კრებული. თბ.: 2010, გვ. 108-110.
9. ნათიძე მ., რიგვავა ს., ნათიძე ლ., არსენაშვილი ი., ღვინაძე თ. ალტერნატიული საკვები არე ჯილეხის „სტი“ სავაქცინე შტამების კულტივირებისათვის. საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენციის შრომათა კრებული. „ბიოლოგიისა და მედიცინის აქტუალური პრობლემები“. თბ.: 2001, გვ. 95–98.
10. ნათიძე მ., რიგვავა ს., ღვალაძე ლ. Bac. anthracis ექსპრესინდიკაცია სპეციფიკური ფაგის ამპლიფიკაციით და პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციით. საერთაშორისო კონფერენცია აგრობიომრავალფეროვნების დაცვა და სოფლის მეურნეობის მდგრადი განვითარება. თბ.: გვ. 2010, 257-259.
11. ნათიძე მ., რიგვავა ს., ღვალაძე ლ., ქარცხია ნ. ზოგადი მიკრობიოლოგია. თბ.: 2011.
12. ნათიძე მ., ღვინაძე თ., ლურსმანაშვილი ნ., არსენაშვილი ი. ციმბირული წყლულის საწინააღმდეგო „55“ და „სტი“ ვაქცინების იმუნოგენობის

შედარებითი შესწავლა. საქართველოს ზსსს ინსტიტუტის საიუბილეო კონფერენციის მასალები. ნაწილი 33 თბ.: 1994, გვ. 299-300.

13. ნათიძე მ., ნათიძე ლ., ფირანიშვილი ნ. ჯილეხის სავაქცინე შტამების მორფოლოგიური და ბიოლოგიური ნიშან–თვისებების შესწავლა. აგრარულ მეცნიერებათა პრობლემები. სამეცნიერო შრომათა კრებული. თბ.: 2005, გვ. 201–203.

14. ნათიძე მ., რიგვავა ს., ნათიძე ლ. ჯილეხის სადიაგნოსტიკო „იმ“ ფაგის ზოგიერთი ბიოლოგიური თვისებები. სამეცნიერო შრომათა კრებული „აგრარული მეცნიერების პრობლემები“, თბ.: 2001, გვ. 285–288.

15. ონაშვილი თ. Bac. anthracis ვირულენტური შტამების შესწავლა. საქ. სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე. თბ.: 2012, გვ. 264–267.

16. ონაშვილი თ. Bac. anthracis კულტურების ანტიბიოტიკომგრძნობელობის შესწავლა. საქ. სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემიის მოამბე. თბ.: 2012, გვ. 268–270.

17. რიგვავა ს., ბუბაშვილი მ., ნათიძე მ., გოგიაშვილი დ., ვარძელაშვილი ნ., ნათიძე ლ., ქარუხნიშვილი მ. პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქცია ჯილეხის საწინააღმდეგო ანტისხეულების განსაზღვრის ექპრესმეთოდი. *„ვეტერინარია“,* 2000, #4-5, გვ. 32-35.

18. Абалакин В.А. и др. Влияние летального сибиреявзенного токсина на функциональную активность перитониальных мононуклеарных нейтрофилов мышей. «*Микробиология*», 1990, №2, с. 62-67.

19. Абалакин В.А., Черкасский Б.А. Наследственная устойчивость к сибирской язве и чувствительность к сибиреявзвенному токсину у мышей. «*Микробиол*», 1986, №5, с.45-49.

20. Абалакин В.А., Черкасский Б. Л., Смирнова Е. Ф. Сравнительная способность к токсинообразованию у вакцинных штаммов 34F2 и СТИ. Вопросы эффективности противосибираязвенных мероприятий, Москва, изд. МВА им. К.И. Скрябина, 1974, с. 110-111.

21. Авроровa Р.И., Горбунова Л.С., Басова Н.Н., Левина М. И. «Реакция пассивной гемагглютинации при гриппе». «*Микроб. Эпидем. и иммуноб*». 1996, 1, с. 104-108.

22. Архипов В.В. Пути искоренения сибирской язвы. Сибирская язва в СССР и перспективы её ликвидации. Москва, 1968, с. 56-57.

23. Ахмедзянов Ю.А., Наймолов П.И. Использование плазмидного скрининга для дифференциации штаммов Bacillus anthracis от близкородственных видов почвенных бацил. «*Микробиология*», 1989, №11, с. 28.

24. Ахмедов Д.Д. Шамов Д.А. Редкая форма сибирской язвы с поражением вес обоих глаз. Клиническая медицина, 1980, т. 58, 2, с. 80-82.

25. Ахундова К.А. Значение Bac anthracis в патологии человека. «*Микробиология*», 1967, 10, с. 129.

26. Байрак В.А., Беляев В.М., Гительсон С.С., Практикум по ветеринарной

микробиологии. Москва, «Колос», 1980, 113 с.

27. Бакулов И.А. Диагностика, специфическая профилактика и меры борьбы с сибирской язвой. «Ветеринария», 1971, 6, с. 35.

28. Бакулов И.А. Опыт использования эритроцитарного сибиреязвенного диагностикума. «*Ветеринария*», 1987, 10, с. 27.

29. Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Косяченко Н.С. Современные воззрения на безопасность живых сибиреязвенных вакцин. «*Ветеринария*», 1993, №1, с. 22-25.

30. Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Семиверстов В.В. Сибирская язва /антракс/. Новые страницы в изучении «старой» болезни. Вольчинский, 2000, 283 с.

31. Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Семивестров В.В. «Сибирская язва /антракс/ Новые страницы в изучении «старой» болезни, Владимир, «Посад», 2001, 201 с.

32. Бакулов И.А., Котляров В.М., Книзе А.В. Сибирская язва животных в современных условиях. Ветеринарная газета, 2002, 7. 2-5 с.;

33. Боязгян А.Б., Григорян С.Л. Сравнительное изучение методов иммунизации крупного рогатого скота против сибирской язвы. Вопросы эффективности противосибиреязвенных мероприятии. Москва, 1974, с. 102-103.

34. Бубашвили М., Ригвава С, Гогиашвили Д, Карухнишвили М., Вардзелашвили Н., Натидзе М.Б., Ласареишвили Б. Методические подходы и разработка получения комплексного противосибиреязвенного препарата. «*Эсперимента́льная и клиническая медицина*». Тбилиси, 2008, с. 27-30.

35. Бубашвили М., Ригвава С., Гогиашвили., Карухнишвили Д.М, Вардзелашвили Н, Натидзе М., Ласареишвили Б., Кавтарадзе Л., Губеладзе Л. сравнительние изучение спобности Bac. anthracis синтезировать капсул на различних питательных средах и получение капсульного антигена. «*Сакартвелос самедицино Журнали*», Тбилиси, 2009, с. 49-50.

36. Вашков В.И., Курочкина Н.А., «Сравнительная оценка производственных методов концентрирования и очистки сывороток» Бюлетень по обмену опытов ин-та эпидемиологии и микробиологии, Москва, 1946, 2/16, 8 с.

37. Вернер О.М., Синяк К.М., Волкова В.П. Влияние pH на состав жирных кислот сибирской язвы. Москва, АН. СССР, Серия биология, 1987, с. 701-706.

38. Волкова В.П., Вернер О.М., Спорообразование у возбудителя сибирской язвы в модельных почвенных условиях. «*Микробиология*», 1988, т. 50, 6, с. 31-36.

39. Гаврилов В.А., Ведерников В.А., Балдина И.В., Селиверстов В.В. Проблема ликвидации сибиреязвенных скотомогильников. Ветеринарная медицина, №4, 2006.

40. Георгадзе И.А., Натидзе М.М. Результаты ассоциированной вакцинации против столбняка и сибирской язвы. Митериалы XVII научной конференции ГЗВНИИ. Тбилиси, 1967, с. 117-180.

41. Георгадзе И.А., Соловьев П.И., Натидзе М.М., Ригвава С.А. Эритроцитарный

диагностикум для титрования антисибиреязвенных сывороток по Бойдену. Тр. ТбИЛ. НИИВС. Тбилиси, 1972, т. VIII, с. 302-304.

42. Георгадзе И.А., Варданашвили М.Н., Натидзе М.М. Изучение эффективности одновременной профилактической прививки вакцинами СТИ и сорбированным столбнячным анатоксином. /экспериментальные наблюдения/. тр. ТбилНИИВС. 1969, т. VII, с. 151-163.

43. Георгадзе И.А., Натидзе М.М., Ригвава С.А. Применение РПГА для определения динамики нарастания титра антифаговых сывороток в процессе гипериммунизации животных», В. сб.: «Бактериофаги», Теоретические и практические вопросы», Москва, 1983, 119-122 с.;

44. Георгадзе И.А., Натидзе М.М., Ригвава С.А., Применение модифицированного антительного эритроцитарного диагностикума для титрования фагов». Мат. Всесоюз. симп. посвященный 60-летию Тбил. НИИВС. 1984, с. 285-290.

45. Георгадзе И.А., Ригвава С.А., Натидзе М.М. Изготовление антительного эритроцитарного диагностикума и экспрессдиагностика сибирской язвы. Материалы III Республиканской конференции молодых ученных и специалистов в области животноводства, ветеринарии и экономики с/ж. Тбилиси, 1986, с. 130-130.

46. Георгадзе И.А., Соловьев П.И., Бубашвили М.Е., Натидзе М.М., Татуашвили Н.М., Ригвава С.А. «Гетерогенный глобулин для лечения стафилококковых заболевании» В. сб.: «Научные основы производства гипериммунных сывороток» Томск, 1979, с. 13-14.

47. Георгадзе И.А., Соловьев П.И., Натидзе М.М. Получение антибактериального и антитоксического /аа/ противосибиреязвенного глобулина с помощью авирулентных штаммов. Вопросы эффективности противосибиреязвенных мероприятии. Москва, 1974, с. 114-116.

48. Георгадзе И.А., Соловьев П.И., Натидзе М.М., Разработка рационального метода подготовки и отбора лошадей продуцентов для получения высокоактивных сывороток с помощью авирулентных штаммов /сообщение 1/ Мат. Юбилейного сиппозиума посвященного 50 летию ТбИЛНИИ ВС, Тбилиси, 1974, с. 445-448.

49. Григорян С.Л. Экономическая эффективность аэрозольной иммунизации крупного рогатого скота против сибирской язвы. Организация и экономика ветеринарной мероприятий. 1988, с 18-19.

50. Дегтяренко А.В., Розницына Г.В. «Диагностическая эффективность реакции непрямой гемагглютинации при бруцеллезе крупного рогатого стока» Реферативный журнал. Васхнил. Москва, 1991, 3. 9 с.

51. Дегтяренко А.В., Базницына Г.В., Аракелян П.Н. «Диагностическое значение непрямой гемагглютинации при обнаружении бруцеллезных антител в молоке крупного рогатого скота» «Реферативный журнал ВАСХНИЛ» Москва, 1990, 4, 40 с.

52. Джупина С.И., Сравнительная эпизоотология сибирской язвы. «*Ветеринария*», 1999, 9, с. 13-17.

53. Егорова Н.Б., Ефремова В.Н., «Клинические испытания комплекса стафилококка полученного методом водной экстракции, реактогенность, клиническая эффективность, иммуногенность» «*Микробиол*». 1982, 1, с. 18-21.

54. Езепчук Ю.В. Протективный антиген. B.anthracis и его взаймоотношения с другими антигенами этого микроба. «*Микробиол*». 1968, 11, с. 37-43.

55. Завирюха А.И., Харгук А.Н. Пирофосфат натрия для исследования почвы на сибирскую язву. «Ветеринария», 1980, 11, с. 25.

56. Закирова С.Ф., Кравченко А.Т., Омельченко Т.М., «Использование реакции непрямой гемагглютинации для диагностики заболеваний, вызванных вирусами коксаки». ЖМЭИ, 1986, 10, с. 113-114.

57. Иванов Н.П., Бельченков В.Б., «Способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума», Авт. Свид. СССР, Москва, 61/101, 1980, №784879, 7. с. 12.

58. Ипатенко Н. Г. Изучение измененных штаммов, Bac.anthracis, «*Ветеринария*», 1980, 7, с. 69.

59. Ипатенко Н.Г. Особенности развития сибиреязвенного процесса. «*Ветеринария*», 2000, с. 2.

60. Ипатенко Н.Г. Патогенез сибирской язвы. «*Ветеринария*», 2003, 2, с. 10-12.

61. Ипатенко Н.Г. Патогенез сибирской язвы. «*Ветеринария*», 2003, 2, с. 10-12.

62. Ипатенко Н.Г. Противосибиреязвенная сыворотка из штамма ВНИИВВИМ - 55. «*Ветеринария*», 2000, 9, с. 22-24.

63. Ипатенко Н.Г. Пути распространения сибирской язвы. «*Ветеринария*», 2002, №5, с. 7.

64. Ипатенко Н.Г. Лабораторные исследования при разных формах течения сибирской язвы. «*Ветеринария*». 2000, 8, с. 28-30.

65. Ипатенко Н.Г., Маничев А.А., Шморгун Б.И., Тихонов В.А., Калунов Ю.А., Дифференциация Bacillus anthracis от спорообразующих почвенных бацил. «*Ветеринария*», 1995, 7, с. 19.

66. Ипатенко Н.Г., Патогенез и клинические признаки сибирской язвы у животных. «*Ветеринария*», 1984, 2, с. 38.

67. Канатов Ю.В., Леви М.И., Шмутер М.Ф., «Использование моноклональных антител для производства чумного антительного эритроцитарного диагностикума». «*Микроб. Эпидем. и Иммуноб*». 1985, 8, с. 73-78.

68. Капанадзе К.С. К истории ветеринарии Грузии. Тбилиси, 1960.

69. Капанадзе К.С. К истории ветеринарии Грузии. Дис. кандидатская. Тбилиси, 1959, 59 с.

70. Каральник Б.В. «Эритроцитарные диагностикумы» Москва, «Медицина», 1976.

71. Карпов С.П. «Реакция непрямой гемагглютинации как метод определения нарастания антител к листериям. Тр. Томского н/и ин-та вакцин и сывороток, Томск, 1960, 328 с.

72. Киладзе Л.В. Сравнительная характеристка биологических свойсв штаммов сибиреязвенного микроба «Ихтиман» и «СТИ». Дис. кандидатская. Тбилиси, 1987.

73. Кириллов Л.В., Селенко А.С., Шморгун Б.И., Шипулин Г.А., Ипатенко Н.Г., Панин А.Н., Мультиплексная ПЦР при идентификации Bac.anthracis. *Ветеринария*, 2004, 3, 19 с.

74. Коникова Р.Е., «Применение реакции пассивной гемагглютинации на примере сухих микробных токсинов». *Военно-медицинский журнал*. 1961, 2, с. 24-27.

75. Корольков В.И., Музигин С.М., «Использование реакции непрямой гемагглютинации для диагностики аденовирусных заболевании крупного рогатого стока». Тр. Беларус, НИИ, эксперим. вет. 1979, 17, с. 34-38.

76. Корцагина М.Ф., «Эритроцитарные диагностикумы на везикулярные болезни сельскохозяйственных животных для РНГА». «*Ветеринария*», 1991, 11, с. 59-60.

77. Красочко П.А., «Чувствительность ИФА и РПГА при диагностике вирусной диарей крупного рогатого скота». «*Ветеринария*», 1991, 5, с. 58.

78. Куратинов Р.А., «РНГА в диагностике туберкулеза крупного рогатого скота». «*Ветеринария*», 1991, с. 9.

79. Курицева А.Ф., «Реакция пассивной гемагглютинации при коклюше». «*Микробиол*», 1966, 2, с. 127-129.

80. Кухалашвили, Т.Г., Дзебисашвили Ю.И. Атлас неблагополучных по сибирской язве пунктов в Грузинской ССР. Тбилиси, 1976.

81. Ларский Э.Г. «Современные методы электрофореза» / Обзор литературы /. «*Лаб. дело*», 1990, 9, с. 4-12.

82. Левина Е.Н., Павлова И.П., Солодинова О.Е. Роль различных показателей гуморального иммунитета при сибирской язве. Вопросы эффективности противосибиреязвенных мероприятий. Москва, 1974, с. 112-113.

83. Лещук С.И., Сердюк Л.В., Мопкова С.М., Анненков В.В., Юринова Г.В. Новые технологии в создании иммунодиагностикумов для РНГА. Современные наукоемкие технологии. 2010, №7.

84. Лисин А.В. Предпосилки к созданию модели интенсивной передачи возбудителя сибирской язвы. Актуальные вопросы .эпидемиологии инфекционных болезней. Москва, 1980, вып. 8, с. 169-171.

85. Майзегаиер Б.И., Луфт У.Т., Ритер Б.Е. «Выявление поверхностного антигена гепатита В с помощью пассивной гемагглютинации» ж. «Микробиол». 1986, №3, с. 99-101.

86. Манцев А.А. Производство стандартного сибиреязвенного бактерийного антигена из вакуумных штаммов Bac.anthracis, «*Ветеринария*». 1991, №7, с. 30.

87. Маринин А.И., Онищенко Г.Г., Степанов А.В., Стариницын И.А., Померанцев А.П., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Микробиологическая диагностика сибирской язвы. Москва, 1999.

88. Марчина С.В., Русалеев В.С., Бадаев Р.Р., Васильев Д.А. Классификация и таксономия двух видов Bac.anthracis, Bac.cereus. *Ветеринария*. 2002, №8, с. 12-15.

89. Марчина С.В., Русалеев В.С., Бадаев Р.Р., Васильев Д.А. Классификация и таксономия двух видов Bac.anthracis, Bac.cereus. «*Ветеринария*». 2002, №8, с. 12-15.

90. Мельницкая Е.В. «Антигенный эритроцитарный диагностикум для определения инфицированности собак лептоспирами». «*Ветеринария*», 1990, №5, с. 66.

91. Мещеряков А.Я. Фагодиагностика сибирской язвы. Материалы пленарного заседания межведомственной комиссии по борьбе с сибирской язвой. Москва, 1968, с. 66-67.

92. Мнацаканян А.Г. Эпидемиология сибирской язвы в Армянской ССР. Сибирская язва в СССР и перспективы ее ликвидации. Москва, 1968, 24 с.

93. Натидзе М.М. Изучение некоторых биологических свойств сибиреязвенного фага и фагодиагностика сибирской язвы. Инфекционные болезни животных, методы их диагностики, лечения и профилактики, Тбилиси, 1989, с. 27-28.

94. Натидзе М.М., Георгадзе И.А., Ригвава С.А., Изготовление антительного эритроцитарного диагностикума и экспресдиагностика сибирской язвы. Материалы III Республиканской конференции молодых ученных и специалистов в области животноводства, ветеринарии и экономики с/х, Тбилиси, 1986, с. 130-130.

95. Натидзе М.М., Ригвава С.А., Лурсманашвили Н.К., Арсенишвили И.А., Гвинадзе Т.И. Сравнительное изучение иммуногенных свойств сибиреязвенных вакцинных штаммов СТИ и 55, Сборник трудов «Актуальные вопросы современной микробиологии и вирусологии, т. IX, Тбилиси, 1996, с. 109-111.

96. Оганесян В.А., «РПГА для диагностики микоплазмоза индеек» «*Ветеринария*», 1987, №4, с. 67-68.

97. Онищенко Г. Г., Сандахчиев Л. С., Нетесов С.В., Мартынюк Р.А. Биотерроризм: Национальная и глобальная угроза. Вестник Российской академии наук. 2003, том 73, №3, с. 195-204.

98. Павлова И.П., Полянская К.Н., Сядук В.Ф., Левина Е.Н., О специфичности сибиреязвенных бактериофагов. Вопросы эффективности противосибиреязвенных мероприятий. Москва, 1974, с. 131-132.

99. Поманов Г.И., Захарев Д.Г., Маничев А.А. Превентивная и терапевтическая активность противосибиреязвенной сыворотки. Специфическая профилактика и диагностика инфекционных болезней животных. Р. «*Ветеринария*», 1988, №7, с. 35.

100. Радчук Н. А. Ветеринарная микробиология и иммунология. М., «Агропромиздат», 1991.

101. Райхер И.И., Райхер Л.И., Смурова Л.Ю., Петрелева Л.Г. «Ферментолиз антитоксических сывороток с применением иммобилизированного пепсина» В.

сб.: «Вырусные и бактериальные препараты». Томск, т. 32, 1983, с. 115-120.

102. Ригвава С., Натидзе М., Бубашвили М., Гогиашвили Д., Карухнишвили М., Вардзелашвили Н. Идентификация штамов Bac. anthracis выделенных из различных объектов и серодиагностика сибирской язвы. Алергология и иммунология. Тбилиси, 2010, с. 123-125.

103. Ригвава С.А. «Разработка научных и производственных основ получения эритроцитарных диагностикумов и противостафилококковых гетерогенных лечебных сывороточных препаратов», Дис. док. Тбилиси, 1999.

104. Ригвава С.А., Бубашвили М.Е., Гогебашвили Н.Д., Натидзе М.М. «Разработка экспресметода для оценки противостафилококкового антитоксического иммунитета» Сб. трудов Международной научн. конф. «Актуальные проблемы биологии и медицины», Тбилиси, 2001, с. 292-295.

105. Ригвава С.А., Бубашвили М.Е., Натидзе М.М. «Ускоренная серологическая диагностика стафилококковых инфекции. Мат. IV съезда иммунологов и аллергологов, Москва, 2001, с. 61-63.

106. Ригвава С.А., Георгадзе И.А., Натидзе М.М., Разработка и производственное освоение сухого сибиреязвенного антительного эритроцитарного диагностикума. Материалы Всесоюзной конференции «Актуальные вопросы разработки препаратов медицины, Махачкала, 1988, с. 117-118.

107. Ригвава С.А., Натидзе М.М., Шарп Р. Применение пассивной гемагглютинации для экспресдиагностики сибирской язвы. Известия академии наук Грузии. Т.30, Тбилиси 2004, с. 565-569.

108. Роньжина С.Д., «Некоторые наблюдения по производству противодифтерийной сыворотки» В. сб. Труды Томского НИИВС, Томск, 1959, №10, с. 184-186.

109. Русалев В.С. Взаймодействие сибиреязвенного бактериофага 3-17 со штаммами Bacillus anthracis. «*Ветеринария*», 1991, №5, с. 26.

110. Русалев В.С. Фагочувствительность консервированных культур Bacillus anthracis. «*Ветеринария*», 1990, №9, с. 39.

111. Савельева Т.А., Никитина А.Н., Купрессова О.К., Пилявская Е.А., «Дальнейшие наблюдения по гетерологичным антивирусным иммуноглобулинам, полученным риванол - спиртовым методом». В. сб. «Вирусные и бактериальные препараты» Томск, т. 31, 1983, с. 80-85.

112. Савранская С.Я., Мошиашвили И.Я., «Использование реакции торможения пассивной гемаглютинации для определения активности дифтерииного токсина» «*Микробиол*». 1981, №10, с. 72-76.

113. Сайнткулов Б.С., Опыт профилактики сибирской язвы сельскохозяйственных животных. «*Ветеринария*», 1995, №5, с. 27.

114. Салтыков Р.А. Научно – исследовательские работы по сибиреязвенной проблеме в учреждениях системы министерства здравоохранения СССР. Материалы VII пленума заседания межведомственной комиссии по борьбе с сибирской язвой. Москва, 1968, с. 11-14.

115. Славина А.М., Косимай Л.И., Токшачева С.Г., Хаджиева Д.А. «Использование

реакции непрямой гемагглютинации для определения титров столбиячного и дифтерийного токсина». В сборнике «Вакцины и сыворотки», Москва, 1974, с. 161-163.

116. Смирнов А.М., Бутко М.П. Ветеринарно – санитарные мероприятия при сибирской язве. Москва, 2002, с. 37-38.

117. Смирнова Г.В., «Сопоставление и оценка в эксперименте трех методов выявления антигенов сальмонелл группы В / реакция агглютинации, непрямой гемагглютинации, коагглютинации/» «*Лабораторное дело*», 1986, №1, с. 45-48.

118. Собакин А.С. Испытание экспериментальных образцов ассоцированной вакцины против сибирской язвы и ящура. «*Ветеринария*», 1993, №11-12, с. 20-23.

119. Соловьев П.И., Натидзе М.М., Лежава Е.М., «Применение модернизированного эритроцитарного диагностикума для титрования антитоксических сывороток в реакции непрямой гемагглютинации» Сб. труд «Вакцины и сыворотки». 1973, с. 121-129.

120. Солодинова О.Е., Павлова И.П., Левина Е.Н. Диагностическое значение РНГА для выявления возбудителя сибирской язвы. Вопросы эффективности противосибиреязвенных мероприятии, Москва, 1974, с. 133-134.

121. Станцева Л.Я., Попова Т.Е., Степанова С. «Режимы приготовления пастереллезных эритроцитарных антигенных диагностикумов», «*Ветеринария*», 2001, №11, с. 27.

122. Султанов, Х.К., Рахимов М.М., Мамсиев Д.С., Балобов М.М. «Диагностическая ценность иммуноферментативного анализа при стафилококковом сепсисе у детей» Тез. Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы сепсиса». Тбилиси, т.2, 1990, с. 437-438.

123. Фазанов Т.Х., Галиуллин А.К., Алитов А.М., Геноидентификация Bacillus anthracis и почвенных сапрофитов методом полимеразной цепной реакций. «*Ветеринария*», 1995, №5, с. 30.

124. Холчев Н.В., Колесникова Л.И., «Использование по очистке и концентрированию противокоревых сывороток» Сообщ. 1, «*Микробиол*». 1947, №5, с. 6-16.

125. Хоменко Г.А., Кирицева А.Д., Устинов В.А., Ловердо Р.Г., Бабич И.И. «Динамика специфических серологических показателей при стафилококковом сепсисе у детей». Тезисы докладов IV научной конференции «Актуальные вопросы иммунологии и аллергологии», Ставрополь, 1978, с. 10-12.

126. Храпова Н.П., Липницкий А.В. «Индикация кокцидиозного гриба в воде с помощью реакции непрямой гемагглютинации» Мат. научной конференции, Волгоград, 1974, с. 54-57.

127. Цыдыпов В.Ц., Сперанский В.В., Оленикова И.И., Иммунный ответ у коров на вакцину СТИ на фоне предшествующей вакцинации. «*Ветеринария*», 1989, №2, с. 32-32.

128. Черкасова Т.Д., Мепелева Г.К. Уровень простогландинов и циклических нуклеотидов в органах мышей при экпсперимента́льной сибиреязвенной интоксикации. «*Микробиол*». 1991, №3, с. 70-73.

129. Шамардин В.А. «Научные основы приготовления эритроцитарных иммуноглобулиновых диагностикумов». Автореф. докт. дис. Москва, 1981.

130. Шамардин В.А., Каральник Г.В. «Способ изготовления эритроцитарных иммуноглобулиновых FC - диагностикумов». «*Микробиол*». 1980, №9, с. 49-52.

131. Шляхов Э.Н., Груз Е.В. Материалы испытания методов лабораторной диагностики сибирской язвы и идентификации возбудителя. «*Микробиология*», 1967, №10, с. 52-55.

132. Шляхов Э.Н., Шварц С.А., Груз Е.В., Маркман Т.М. Итоги шестилетнего (1962-1967) применения химического антраксина в СССР и за рубежом для текущей и ретроспективной диагностики сибирской язвы человека. Материалы VII Пленарного заседания межведомственной комиссии по борьбе сибирской язвой. Москва, 1968, с. 59-60.

133. American antrhax outbreak of 2001. Chronology of Antrhax Events in October, 2001, http://www.ph.ucla.edu/epi/bioter/detect/antaetect/oct01.html.

134. Csizmas L., Preparation of formalinised erithrocytes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1960. V. 103, p 157-160.

135. Chen S., Chu Y., Zhao P., He Y., Jian Y., Lui Y., Lu Z. Development of a recombinant Opp A based indirect hemaglutination test for the detection of antibiotics against Haemophilus parasuis. Acta Trop. 2015 Aug, 158: 8-12 p.

136. Cherif A., Borin S., Rizzi A., Ousari H., Boudanbous A., Dalfonchio D. Characterisation of a rep-pcr chromosomal marcer that discriminates Baccilus anthracis from related species. J. Apple. Vicrobiol, 2004, 93: p. 456-462.

137. Cohn E., Strong L., Hughes W., “Preparation and properties of Serun and Plasma-Protein J. Am Chem Soc, 1946, #68, v3, 599-603 p.

138. Cohn E.G., Surgeron D.M., Hunter M.G. “Enzemes and Enzyme sistemy” Their statein Nature. Harvard University Press Cambridge, mass, 1951, 105 p.

139. Derzelle S., Thierry S. Genetic diversity of Bacillus anthracis in Europe: genotyping methods in forensic and epidemiologic investigations. Biosecur Bioterror. 2013 Sep, 11, Suppl 1: S166-76.

140. Dubert J. M. Selezewicz P., Renlozotte P., Macheboluf M. Nouvelle metode de la separations des proteins serigues parlemethanal applications aux serums de lapin et de cheval-Ann. Inst. Pasteur, 1953 v, 84. N 3, p 37.

141. Driks A. The Bacillus anthracis spore. Mol Aspects Med. 2009; 30 (6): 368-73 p.

142. Hampson K., Lembo T., Bessel P., Auty H., Packer et al. Predictability of anthrax infection in the Serengeti Tanzania. J. Appl. Ecoli. 2011, Jun. 10; 48 (6): 1333-1344 p.

143. Hansen A. “Preparations of purifild antitoxins” Acta pathol Microbiol. Scandin, 1948, 25, 4, 460-463 p.

144. Hugh - Jones M.E. Clobal trendsin the incidence of anthracin livestock Salis. Med Bull, 1990, #68, 2-4 p.

145. Johnson - Winegar A. Vomparison of enzyme - linked imunosorbent and indirect hemagglutination assans for determining antrhax antibiodves. J. Chin, Microbiol, 1984, 20, #3, 357-361.

146. Kim IS., Seong SV., Woo SG., Choi MS., Kang JS., Chang WH. Rapid diagnosis of scrub typhus by a passive hemagglutination assay using recombinant 56-Kilodalton poilipeptides. J. Clin. Microbiol. 1993. Aug; 31 (8):2057-60 p.

147. Leinonen M. “Serological methods for the study of bacterial surface antigens Amsterdam, 1, a, 1985, 179-206 p.

148. Merabishvili M., Natidze M., Rigvava S., Brusseti L., Roddadi N., Diversity of Bacillus anthracis in Georgia and of Vaccine Strains from the Former Soviet Union. Applied and Environmental Microbiology. 2006, 5631-5636 p.

149. Mzali R., Ben Amar M., Kallal W., Kolsi K., Beyrouti M.I., Ayali A. Liver cystic echinococcosis: which cysts are correlated with false negative indirect (passive) hemagglutination? Tunis Med. 2007, May, 85 (5): 367-70 p.

150. Rahman A., Noore S., Hasan A., Ullah R., Rahman H., Hossain A., Ali Y., Islam S. Identification of potential drug targets by subtractive genome analysis of Bacillus anthracis A0248: An in silico approach. Comput Biol Chem. 2014, oct, 52, 66-72 p.

151. Ramishvili K., Rigvava S., Natidze M. Epizootology of anthrax in Georgia and is profilactics, 2004.

152. Rigvava S., Natidze M., Sharp R. Application of RPHA for expres diagnostics of anthrax. Proc. Georg. Acad. Biol. Ser. 30. 2004, 565-570 p.

153. Sahskyan K., Manzikyan M. Epidemiological and Epizootic situation in Armenia 2004;

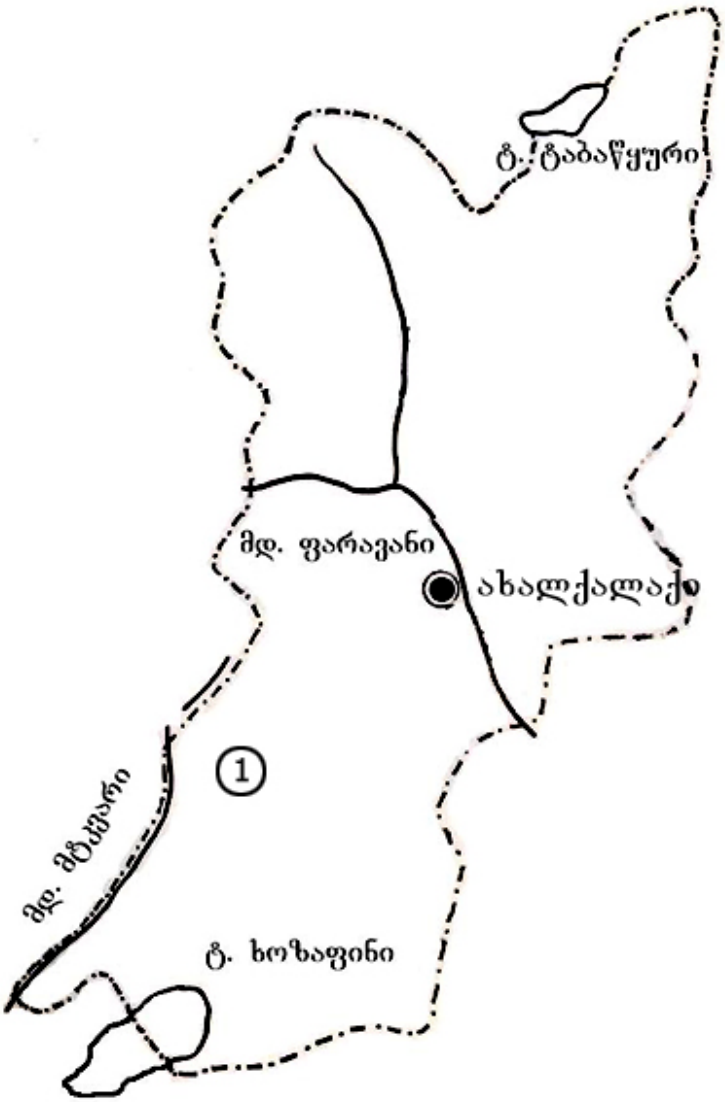
154. Sobernheim G., In Kolle., Kraus. Unlenhuth Handbuch d path. Microorganismen, 1931, VIII, p. 1041.

155. Stanley J.L, Smith H. The threc factory of antrax toxin: Their immunogenecity and lack of demonstrable enzymic activity. J. Gen. Vicrobiol, 1963, 31, #2, p. 329-337.

რუკა – სქემა 1

ახალქალაქის რაიონი

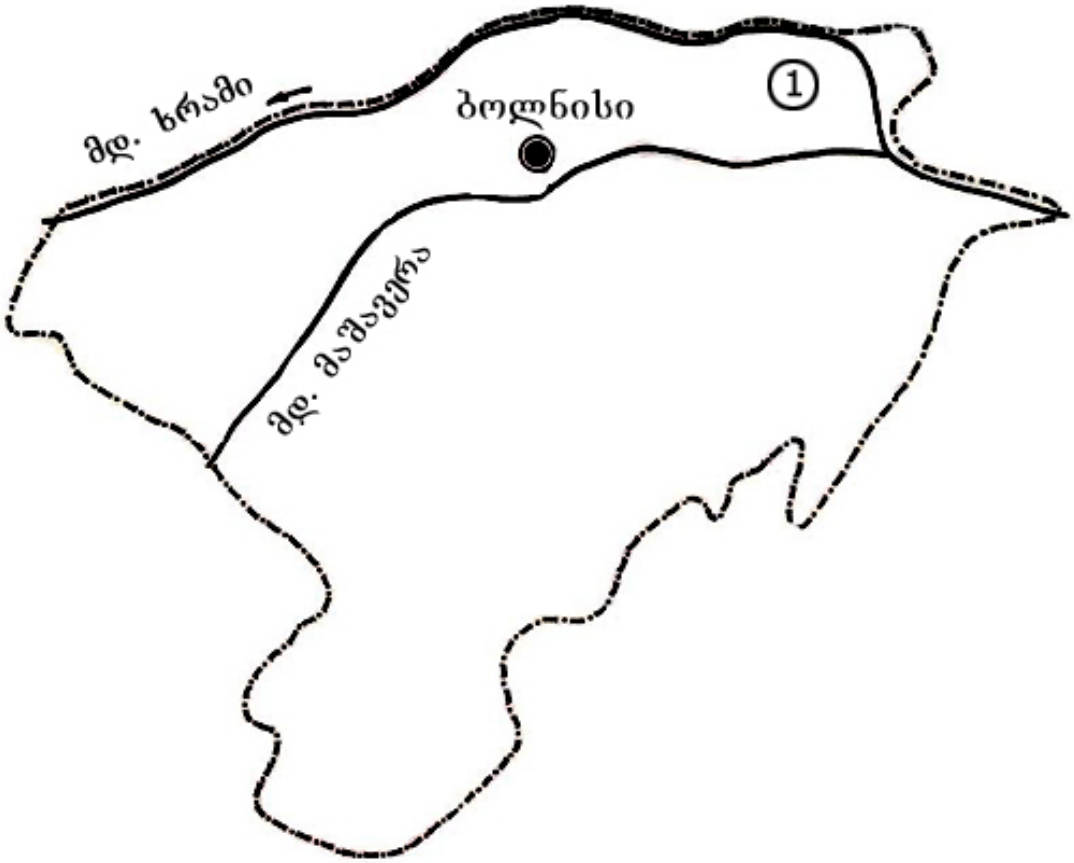
1. დიდი გონდური, 2009



დიდი გონდური *– სოფელი ახალქალაქის რაიონში, აბულის მთის კალთის მიდამოში, ზღვის დონიდან 1850 მ. თბილისიდან 293 კმ; ახალქალაქიდან 15 კმ. ნიადაგი - ყავისფერი, კარბონატული.* pH=6,6-7,5.

ბოლნისის რაიონი

1. ნახიდური – 2005

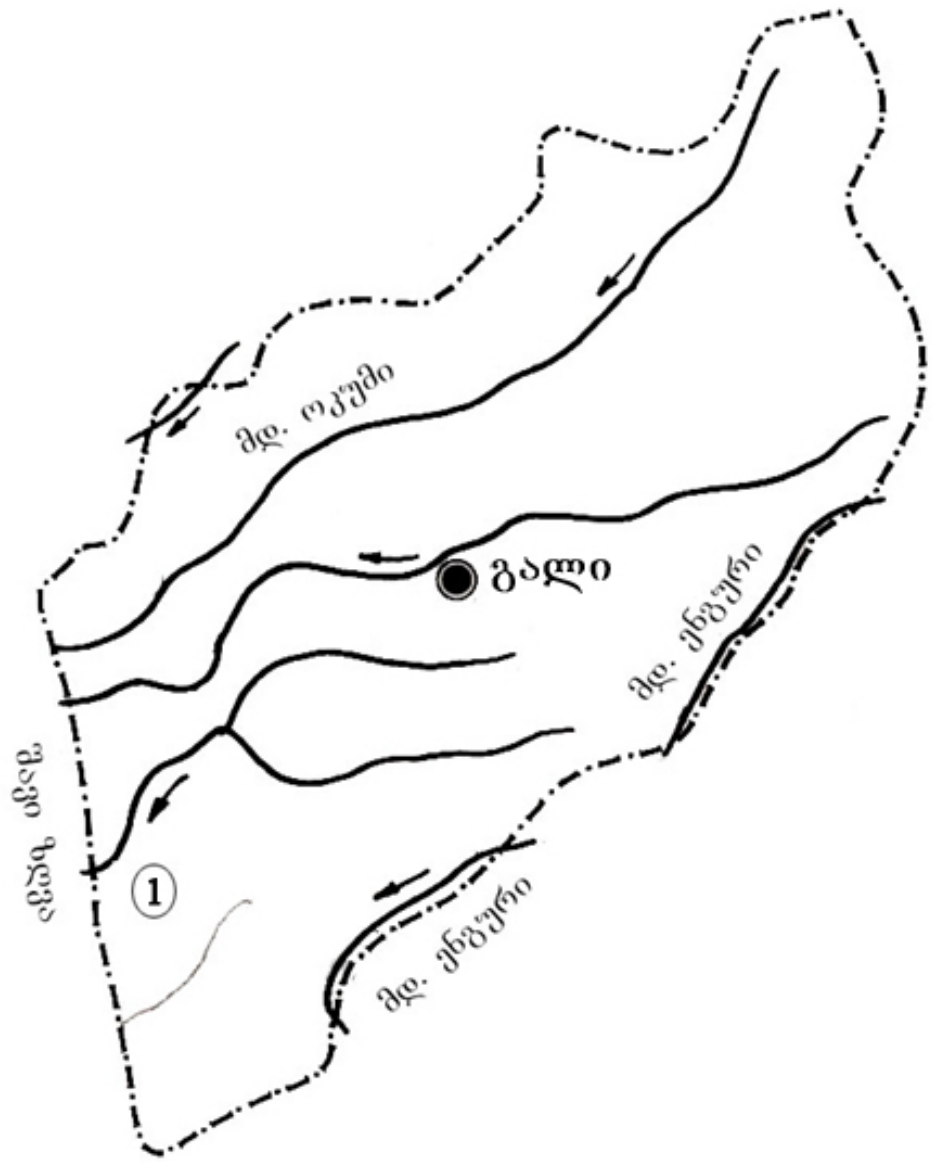


ნახიდური *– სოფელი ბოლნისის რაიონში, მდინარე ქციას მარჯვენა ნაპირზე, ზღვის დონიდან 320 მ. თბილისიდან 76 კმ, ბოლნისიდან 13 კმ. ნიადაგი – ანთროპოგენური, ყავისფერი.* pH=7,0-7,5.

რუკა – სქემა 3

გალის რაიონი

1. **ქვემო ბარღები – 2004.**



ქვემო ბარღები *– სოფელი გალის რაიონში, სამურზაყანოს დაბლობზე, ზღვის დონიდან 5 მ. თბილისიდან 376 კმ, გალიდან 15 კმ. ნიადაგი – სუბტროპიკული, ეწერ-ლებიანი.* pH=6,0-6,5.

რუკა – სქემა 4

გარდაბნის რაიონი

1. **ბირლიკი – 2002;**
2. **კრწანისი – 2005, 2011.**

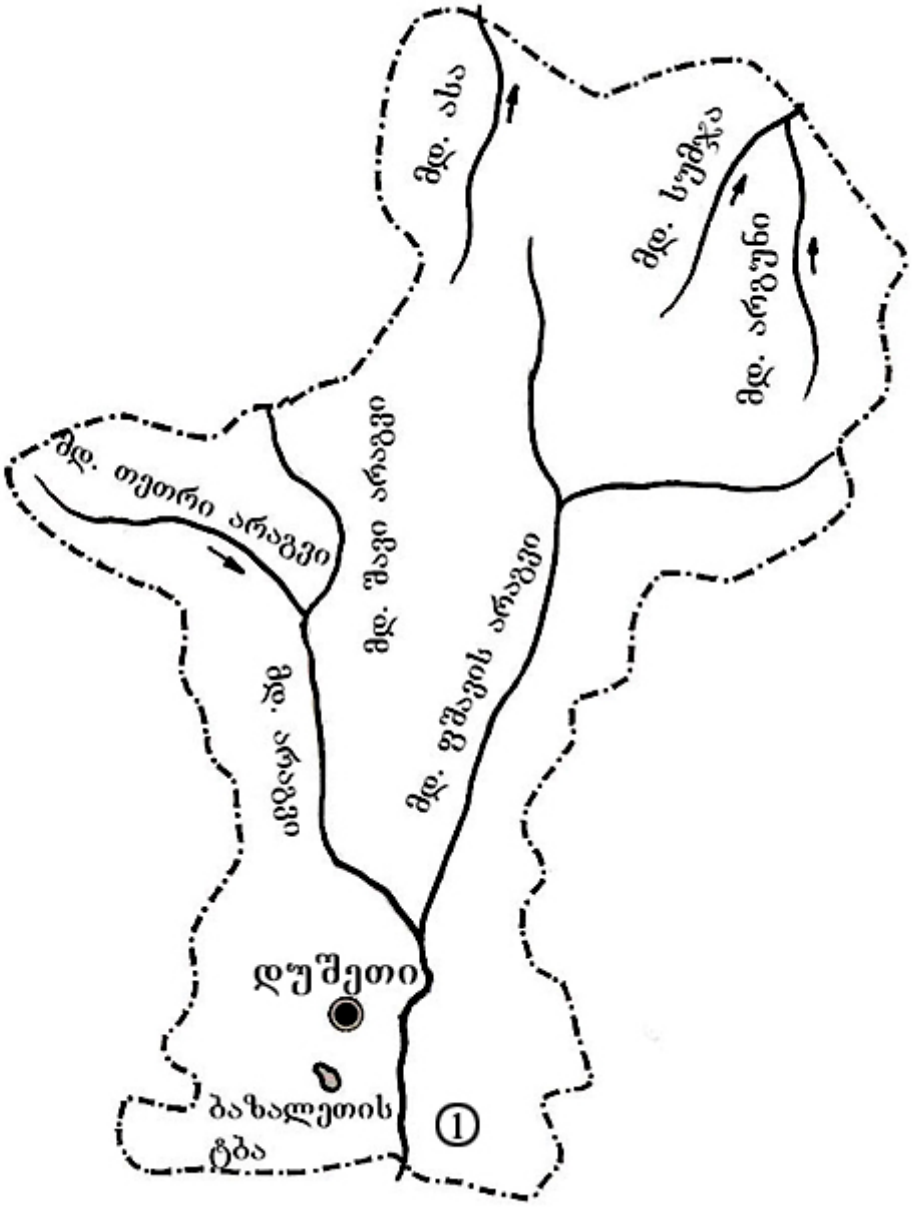
ბირლიკი *–სოფელი გარდაბნის რაიონში, გარდაბნის ვაკეზე, ზღვის დონიდან 310 მ. თბილისიდან 45 კმ, გარდაბნიდან 3 კმ. ნიადაგი რუხი-ყავისფერი. pH=7,5-8,5.*

კრწანისი *– მდინარე მტკვრის მარჯვენა მხარეს, ზღვის დონიდან 380 მ. თბილისიდან 18 კმ. ნიადაგი რუხი-ყავისფერი. pH= 7,5-8,5.*

რუკა – სქემა 5

დუშეთის რაიონი

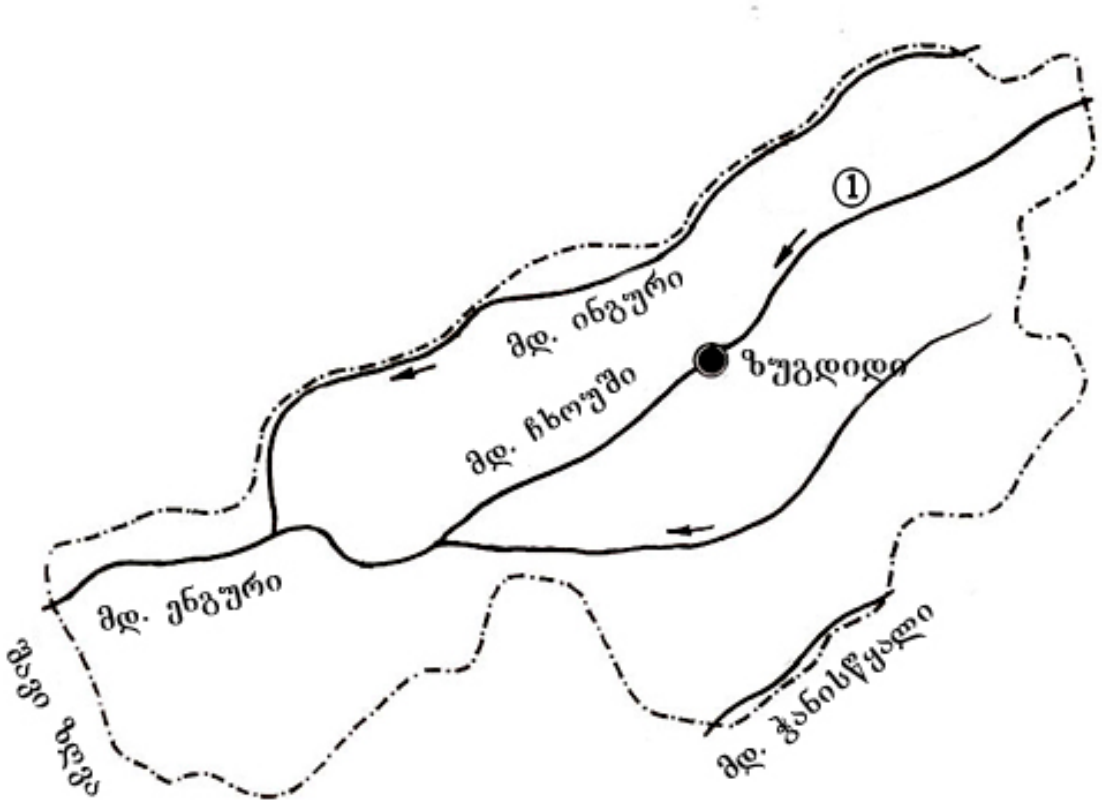
1. აბანოს ხევი – 2005



აბანოსხევი *– სოფელი დუშეთის რაიონში, მდინარე აბანოსხევი სოფელს ორ ნაწილად ყოფს, ზღვის დონიდან 580 მ. თბილისიდან 46 კმ, დუშეთიდან 13 კმ. ნიადაგი – ყავისფერი-კარბონატული.* pH=5,5-6,8.

ზუგდიდის რაიონი

1. ნაწულუკუ 2003.



ნაწულუკუ – სოფელი ზუგდიდის რაიონში, ოდიშის დაბლობზე, მდინარე ენგურის მარცხენა მხარეს, ზღვის დონიდან 120 მ. თბილისიდან 347 კმ, ზუგდიდიდან 8 კმ. ნიადაგი სუბტროპიკული ეწერი ორშტეინიანი-მულჭვლიანი. pH=5,0-6,5.

თეთრი წყაროს რაიონი

1. მუხათი – 2007;
2. ხაიში – 2011.

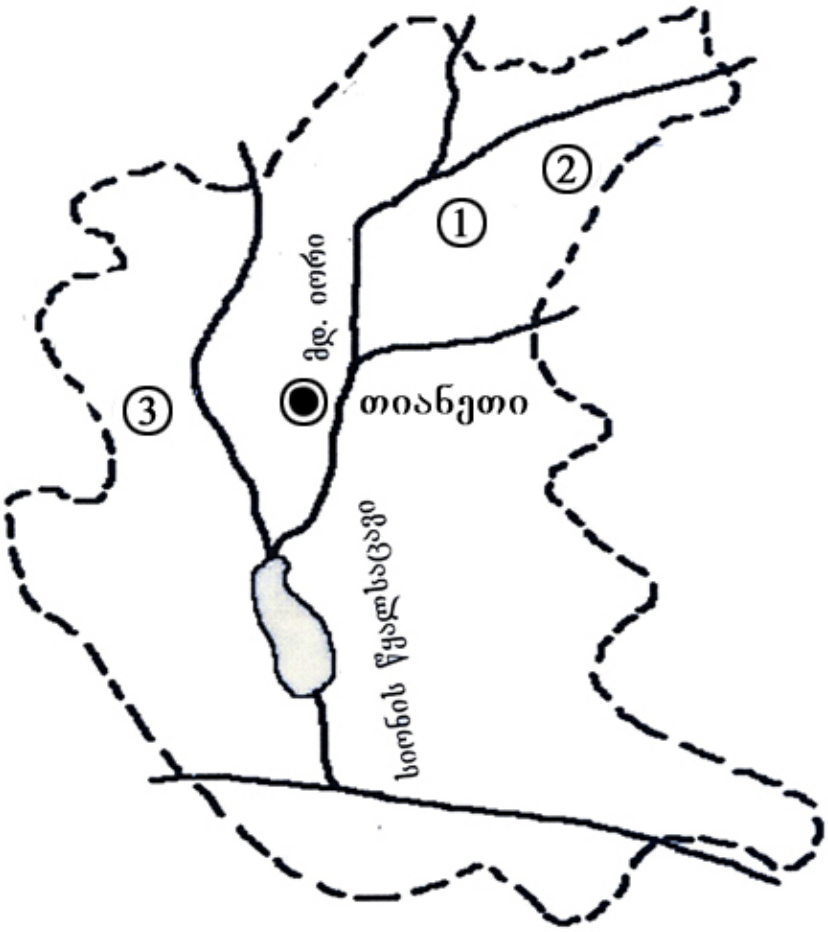
მუხათი *– სოფელი თეთრი წყაროს რაიონში, ქვემო ქართლის ვაკეზე. ზღვის დონიდან 620 მ. თბილისიდან 90 კმ, თეთრი წყაროდან 33 კმ. ნიადაგი – კარბონატული. pH= 7,0-7,5.*

ხაიში *– სოფელი თეთრი წყაროს რაიონში, ზღვის დონიდან 680 მ. მდინარე ალგეთის მარჯვენა მხარეს. თბილისიდან 73 კმ, თეთრი წყაროდან 16 კმ. ნიადაგი – ნეშომპალა-კარბონატული.* pH=7,0-7,5.

რუკა – სქემა 8

თიანეთის რაიონი

1. **ზარიძეები – 2005;**
2. **იარაჯულები – 2005;**
3. **ხოფცა – 2005.**



ზარიძეები *– სოფელი თიანეთის რაიონში, ქართლის ქედის აღმო სავლეთ კალთაზე, მდინარე ვერხვლის ნაპირებზე, ზღვის დონიდან 1300 მ. თბილისიდან 85 კმ, თიანეთიდან 7 კმ. ნიადაგი – ყომრალი-არამაძღარი. pH=5,5-6,8.*

იარაჯულები *– სოფელი თიანეთის რაიონში, ქართლის ქედის აღმოსავლეთ კალთაზე, მდინარე ვერხვლის მარჯვენა ნაპირას, ზღვის დონიდან 1200 მ, თბილისიდან 86 კმ, თიანეთიდან 8 კმ. ნიადაგი – ყომრალი-არამაძღარი. pH=5,5-6,8.*

ხოფცა *– სოფელი თიანეთის რაიონში, ქართლის ქედის დასავლეთ კალთაზე, მდინარე ქუსნოს მარჯვენა ნაპირზე, ზღვის დონიდან 1140 მ. თბილისიდან 87,5 კმ, თიანეთიდან 9,5 კმ. ნიადაგი – ყომრალი-არამაძღარი.* pH=5,5-6,8.

მარნეულის რაიონი

1. საბირქენდი - 2011.

საბირქენდი *– სოფელი მარნეულის ვაკეზე, მდინარე ალგეთის ნაპირას, ზღვის დონიდან 335 მ. თბილისიდან 44 კმ, მარნეულიდან 5 კმ, ნიადაგი – რუხი-ყავისფერი მუქი. pH=7,5-8,5.*

ყიზილაჯლო *– სოფელი მარნეულის რაიონში, მარნეულის ვაკეზე, ზღვის დონიდან 440 მ. თბილისიდან 43 კმ, მარნეულიდან 4 კმ. ნიადაგი რუხი-ყავისფერი მუქი.* pH=7,5-8,5.

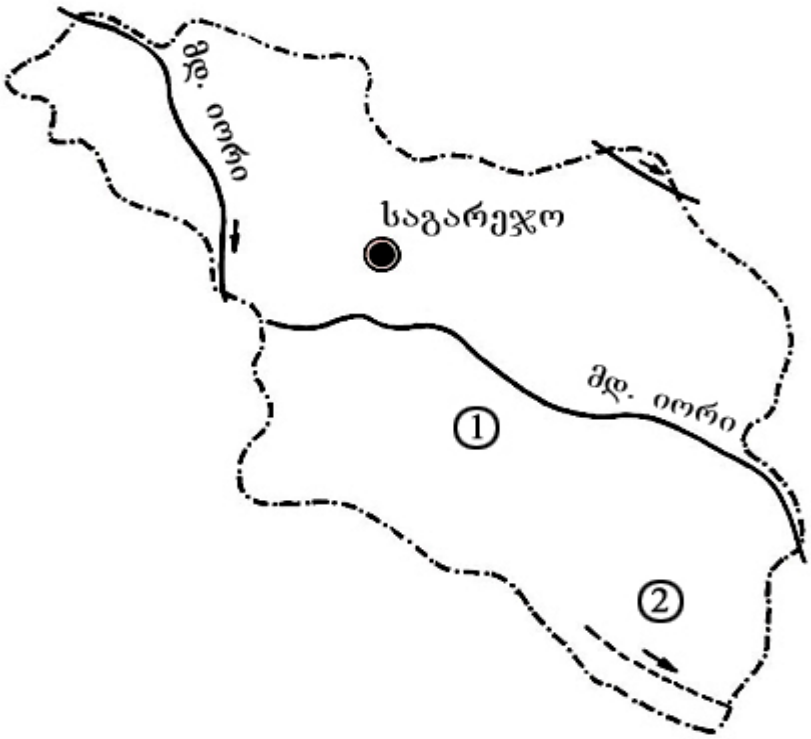
ნინოწმინდის რაიონი

1. **დიდი გონდრიო – 2009**

დიდი გონდრიო *– სოფელი ნინოწმინდის რაიონში, ახალქალაქის პლატოზე, მდინარე მურჯახეთის წყლის მარჯვენა მხარეს, ზღვის დონიდან 1780 მ. თბილისიდან 183 კმ, ნინოწმინდიდან 16 კმ, ნიადაგი შავმიწა.* pH 6,6-7,5.

საგარეჯოს რაიონი

1. თულარი – 2011;
2. ლამბალო - 2011;

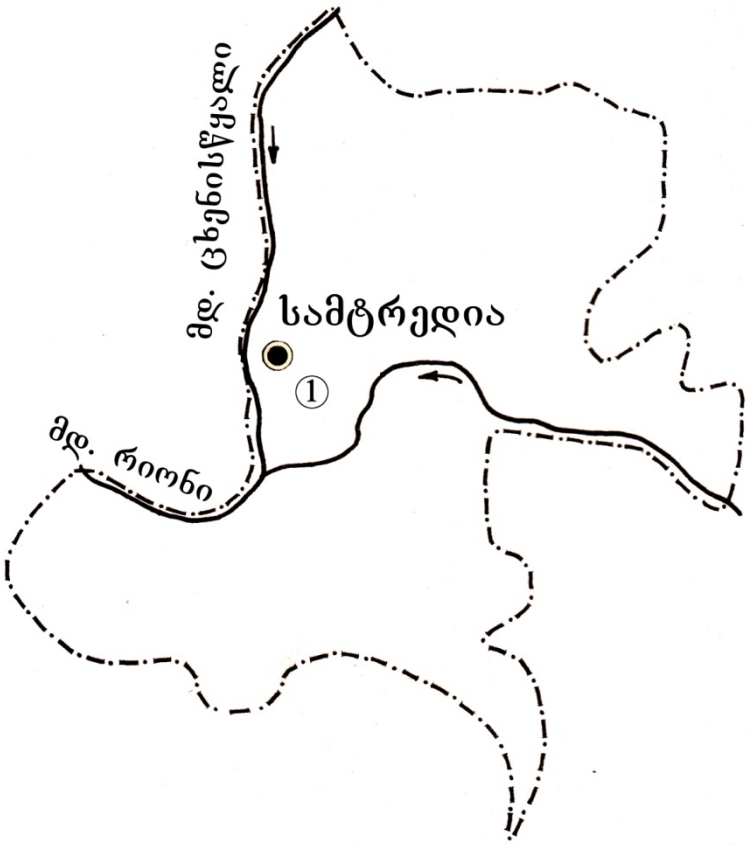


თულარი *– სოფელი საგარეჯოს რაიონში, ივრის ზეგანზე, მდინარე ივრის მარჯვენა ნაპირას. ზღვის დონიდან 450 მ. თბილისიდან 92 კმ, საგარეჯოდან 43 კმ. ნიადაგი – ყავისფერი-კარბონატული. pH=7,0-7,5.*

ლამბალო *– სოფელი საგარეჯოს რაიონში, მდინარე იორის მარჯვენა მხარეს, ზღვის დონიდან 450 მ. თბილისიდან 84 კმ, საგარეჯოდან 35 კმ. ნიადაგი ყავისფერი-კარბონატული.* pH=7,0-7,5.

სამტრედიის რაიონი

1. კვირიკე – 2006.



კვირიკე *– სოფელი სამტრედიის რაიონში, იმერეთის დაბლობზე, ზღვის დონიდან 40 მ. თბილისიდან 275 კმ, სამტრედიიდან 7კმ. ნიადაგი – ალუვური-კარბონატული. pH=5,0-6,5.*

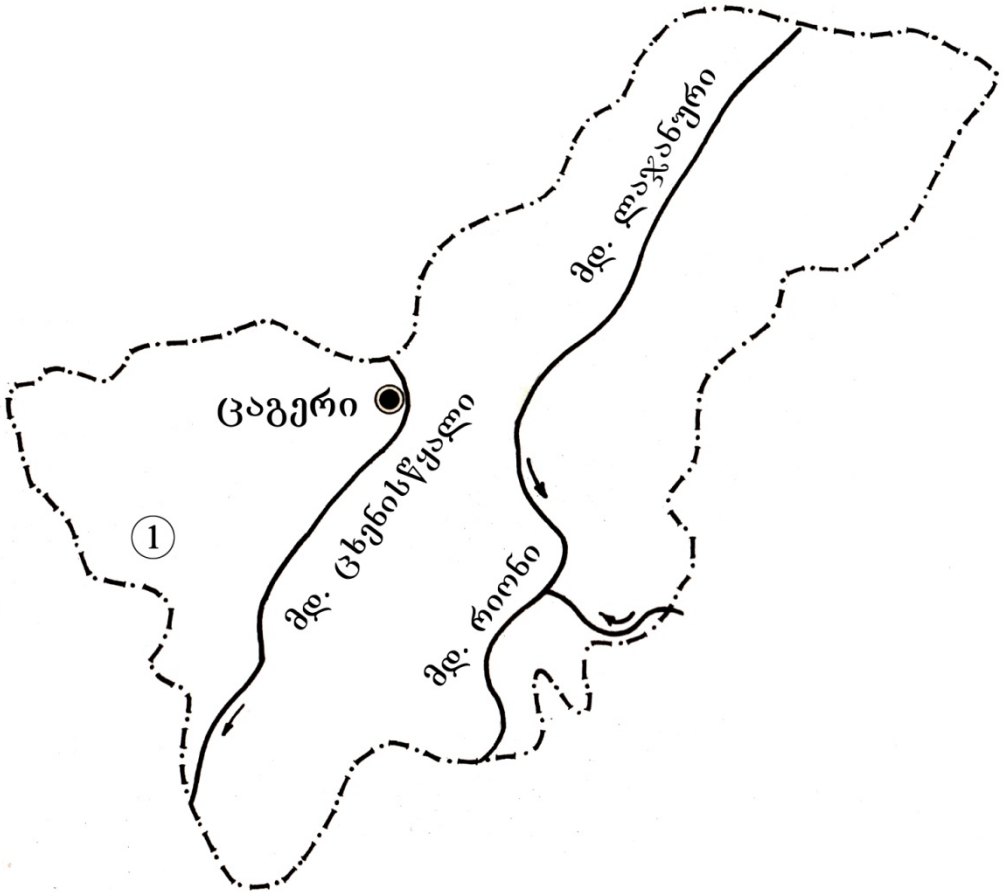
სტეფანწმინდის რაიონი

1. არშა – 2003.

არშა *– სოფელი სტეფანწმინდის რაიონში, მდინარე თერგის ნაპირზე, ზღვის დონიდან 1760 მ. თბილისიდან 157 კმ, სტეფანწმინდიდან 5 კმ. ნიადაგი – მთა-ტყე-მდელოს. pH=* 6.0-6,5.

ცაგერის რაიონი

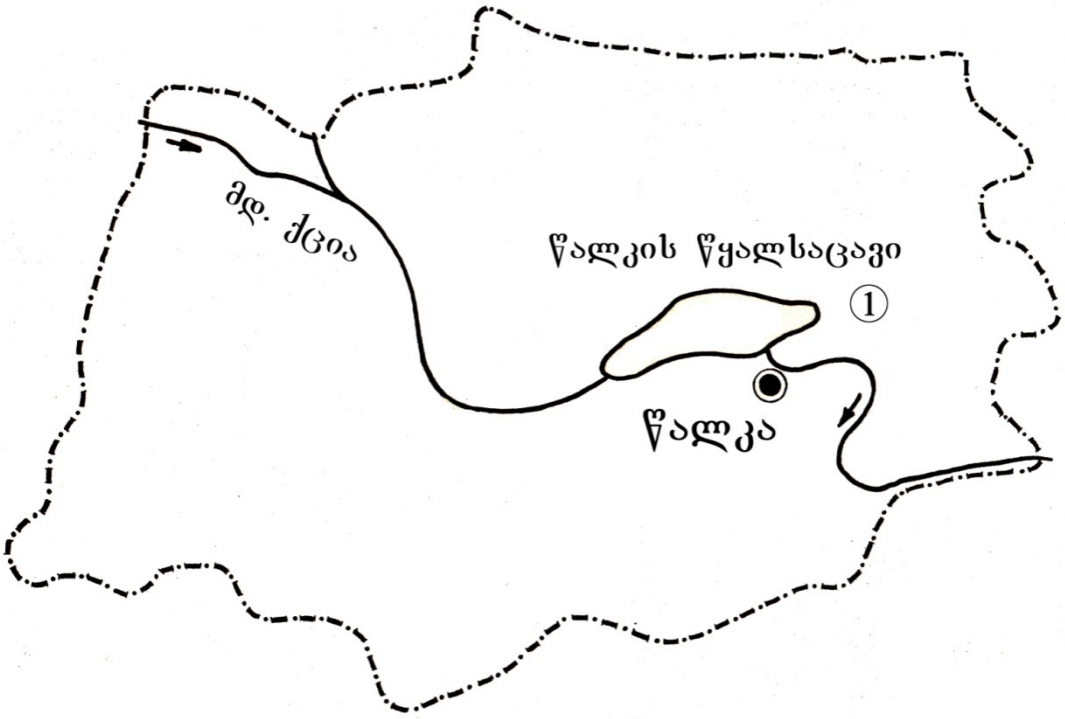
1. ქულბაქი – 2007.



ქულბაქი *– სოფელი ცაგერის რაიონში, მდინარე ჯომულის ხეობაში, ზღვის დონიდან 720 მ. თბილისიდან 322 კმ, ცაგერიდან 17 კმ. ნიადაგი – ყომრალი-მჟავე. pH=5,5-6,2.*

წალკის რაიონი

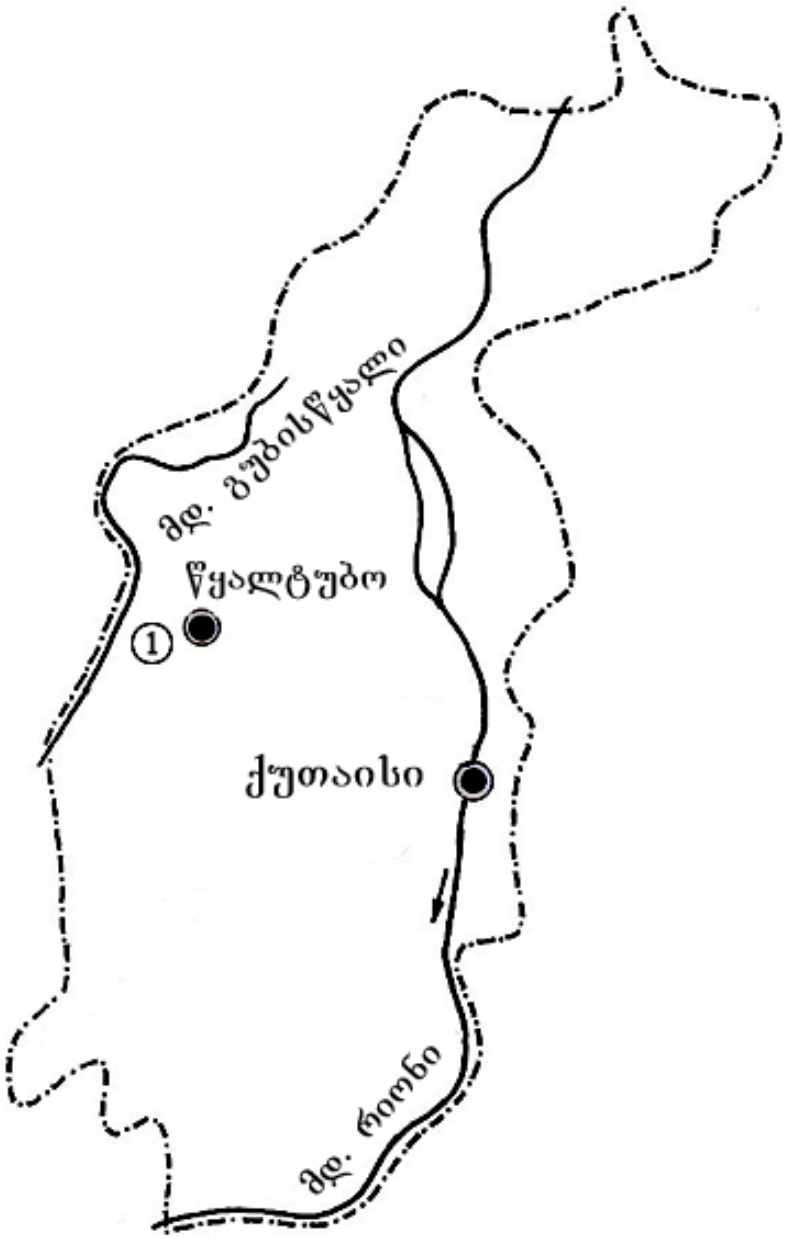
1. ხადიკი – 2008, 2009, 2011.



ხადიკი *– სოფელი წალკის რაიონში, წალკის ქვაბულში, წყალსაცავის ნაპირზე, ზღვის დონიდან 1530 მ. თბილისიდან 97 კმ, წალკიდან 3 კმ. ნიადაგი – შავმიწა. pH=6,6-7,5.*

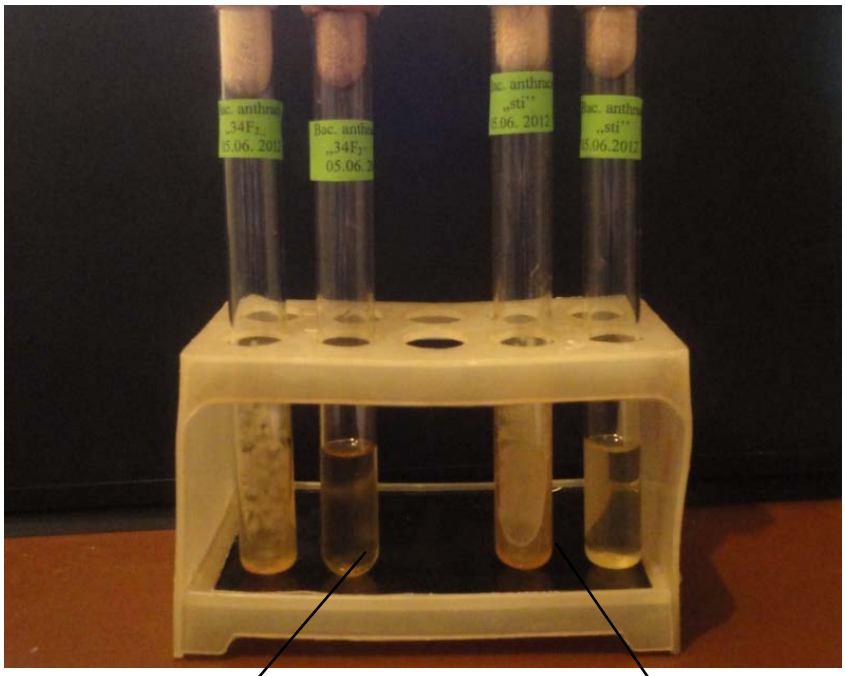
წყალტუბოს რაიონი

1. თერნალი – 2004;



თერნალი *– სოფელი წყალტუბოს რაიონში. წყალტუბოს წყლის მარცხენა მხარეს. ზღვის დონიდან 300 მ. თბილისიდან 224 კმ, წყალტუბოდან 3 კმ. ნიადაგი – სუბტროპიკული-ეწერი. pH=5,5-6,2.*

სურათები



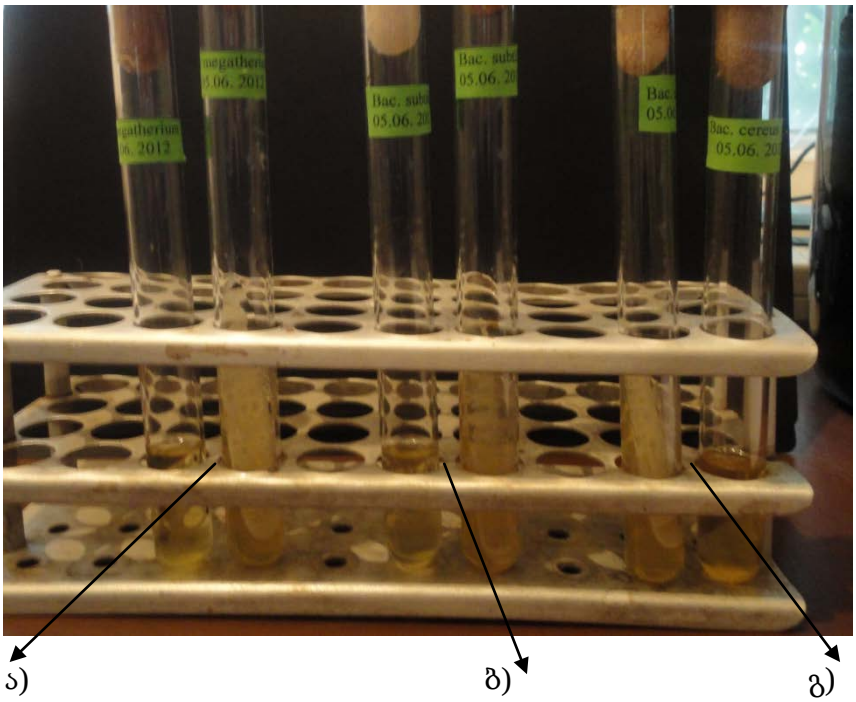
ა) ბ)

სურ. 1. Bac. Anthracis ზრდა ბულიონში და აგარზე

ა) $34F_2$ ბ) „სტი“

ა) ბ)

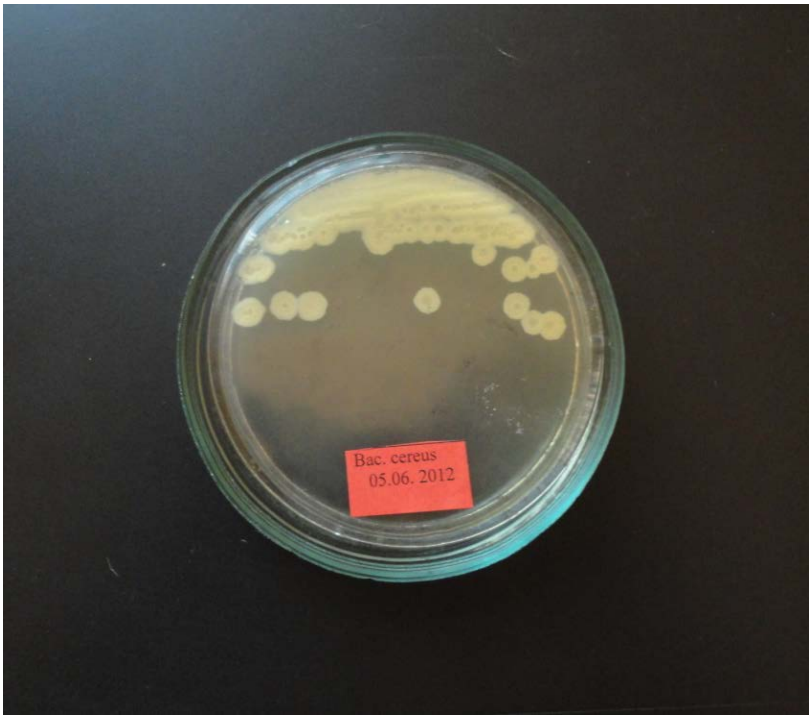
სურ. 2. Bac. anthracis სავაქცინე შტამების
კოლონიები ბრეინჰარტის აგარზე
ა) 34F2 ბ) „სტი“



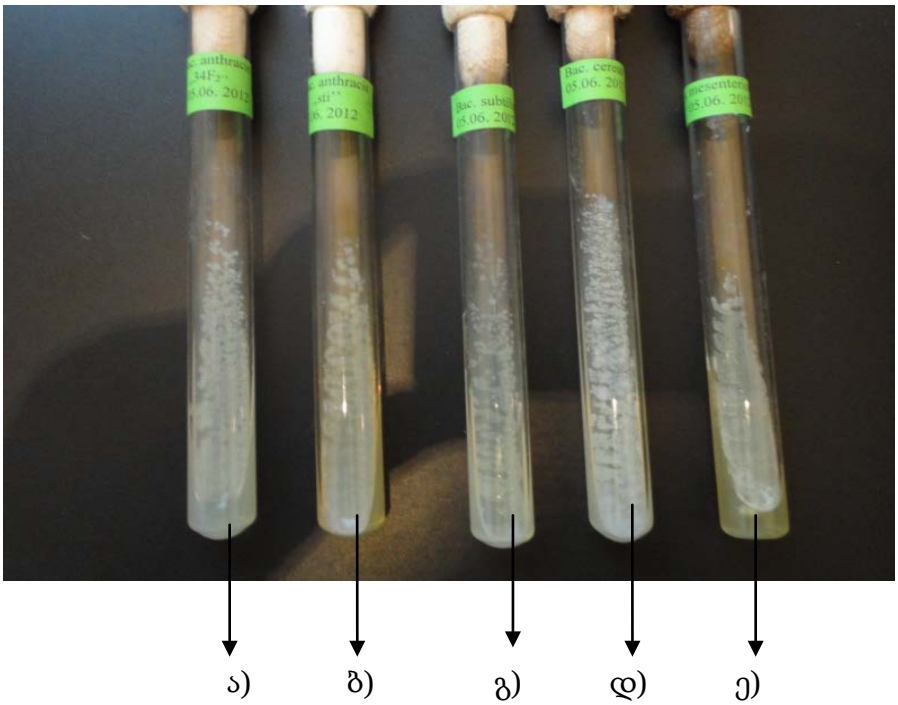
სურ. 3 Bacillus გვარის მიკრობთა ზრდა

ბრეინჰარტის ბულიონში და აგარზე

ა) Bac. megatheriul, ბ) Bac. subtilis, გ) Bac. cereus

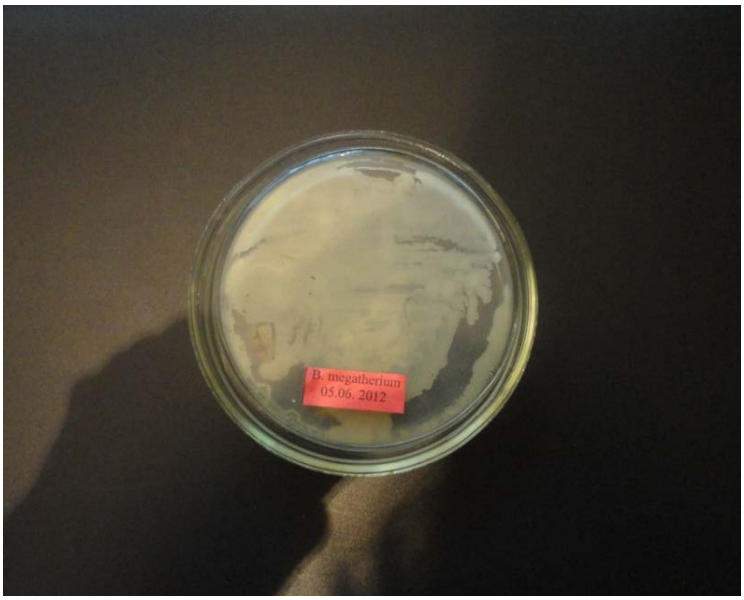


სურ 4. Bac. cereus. კოლონიები აგარზე

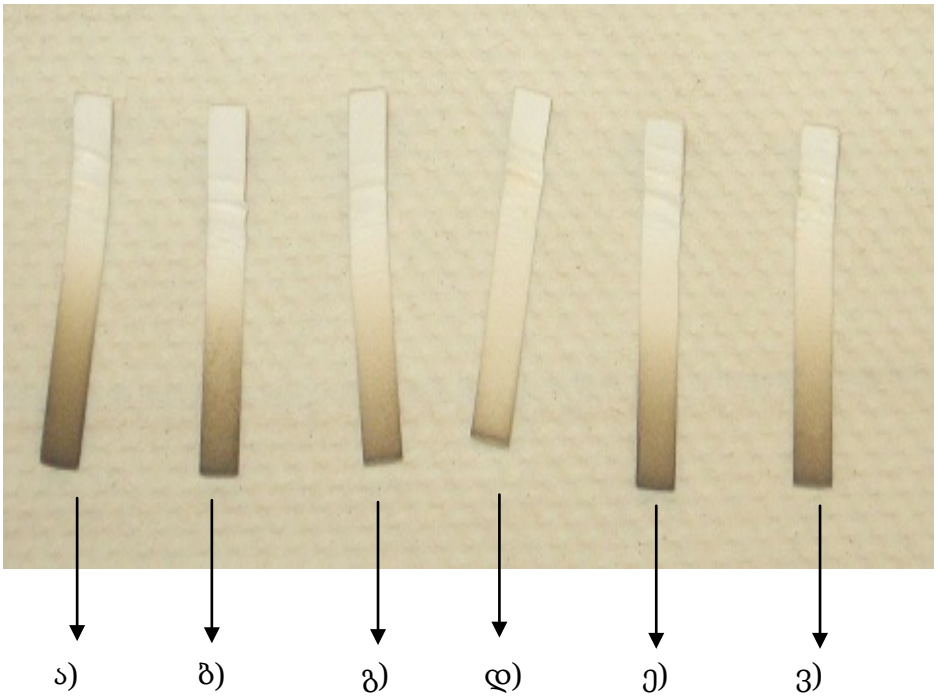


სურ. 5. ბაცილების გვარის მიკროორგანიზმების ზრდა ირიბ აგარზე

ა) $34F_2$; ბ) „სტი“; გ) Bac. Subtilis; დ) Bac. cereus; ე) Bac. mesentericus.



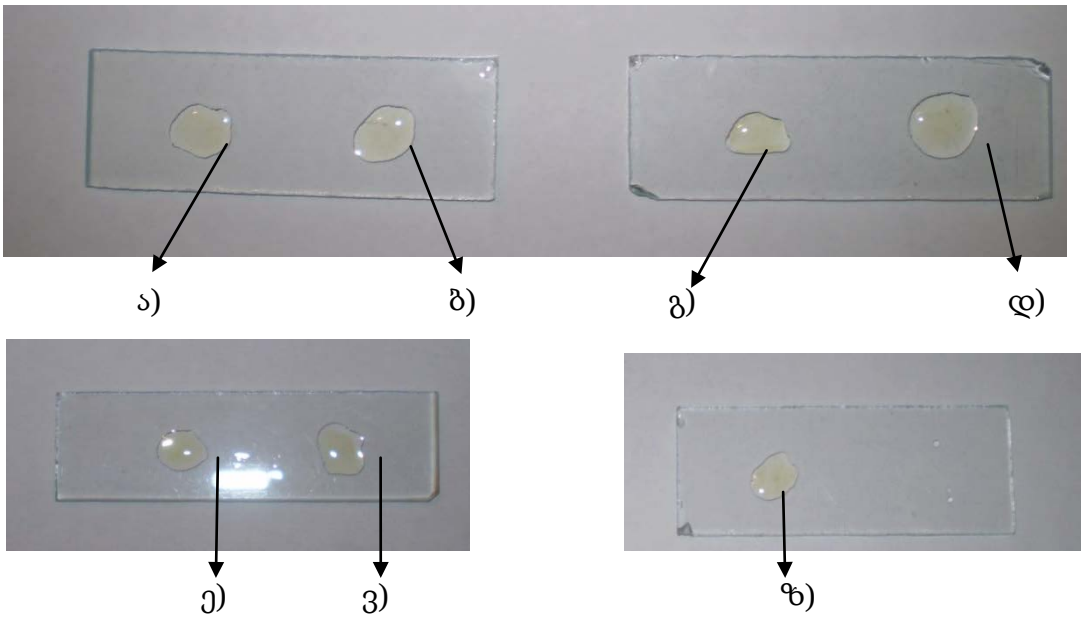
სურ. 6. Bac. megatherium ზრდა ბრეინჰარტის აგარზე.



სურ. 7. H_2S–ის ტესტი

ა) Bac. anthracis-sti; ბ) Bac.anthracis 34 f_2; გ) Bac.megathreium;

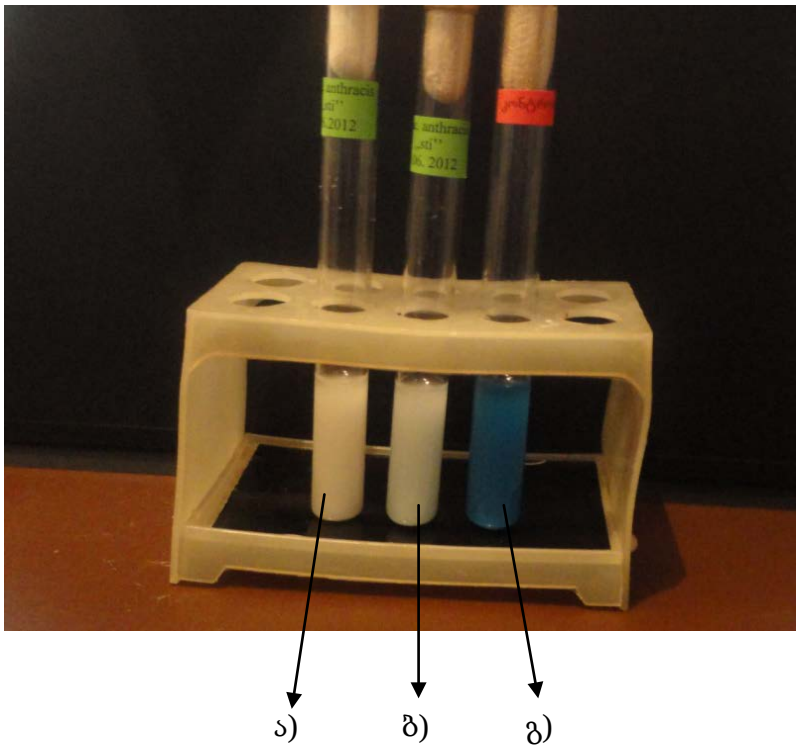
დ) Bac. cereus ე) Bac. mesentericus; ვ) Bac.subtilis



სურ. 8. *NH_3* გამოყოფა

ა) Bac. anthracis „სტი“; ბ) Bac. anthracis 34F_2; გ) Bac. Cereus; დ) Bac. Megatherium;

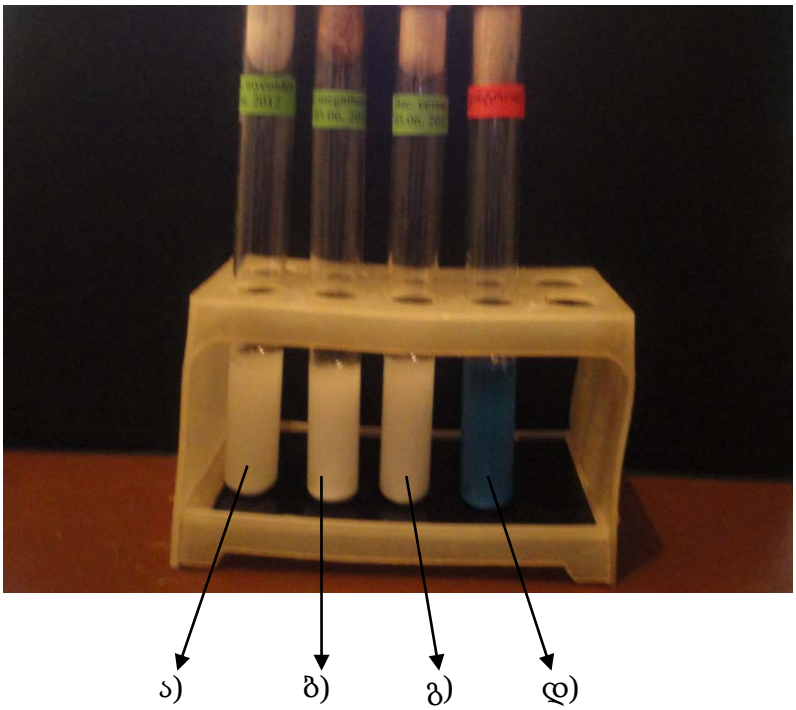
ე) Bac. Mesentericus; ვ) Bac.subtilis; ზ) Bac. Mycoides.



სურ 9. რძის რედუქცია

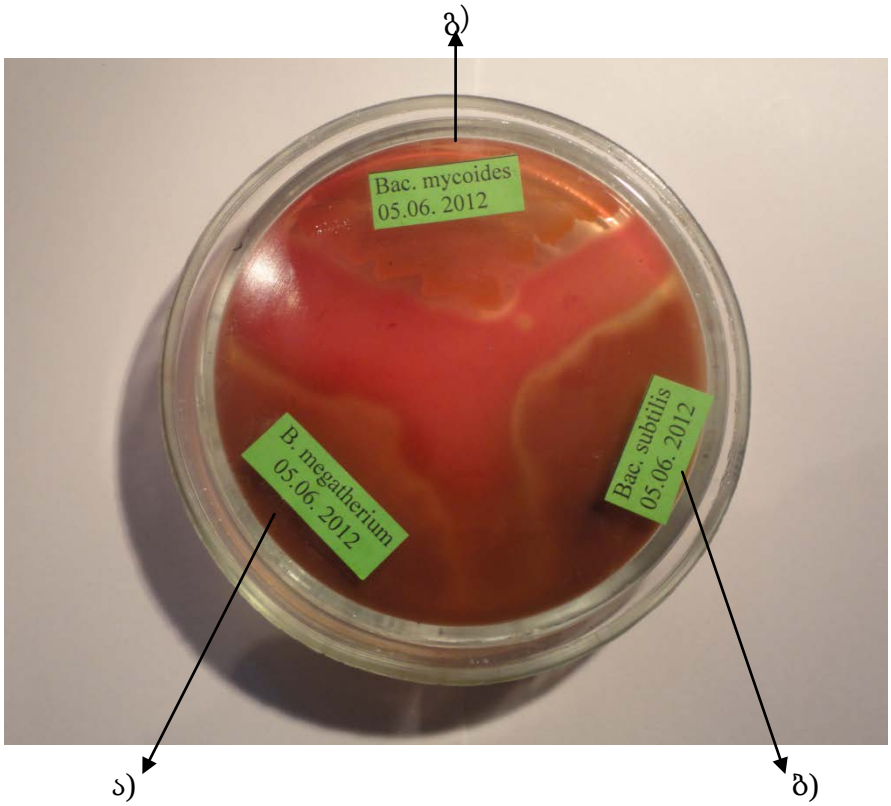
ა) Bac. anthracis,,სტი'' ბ) $34F_2$ გ) კონტროლი

სურ 10. Bac. anthracis $34F_2$ (არაჰემოლიზური)



სურ. 11. Bacillus გვარის მიკრობების რძის რედუქცია

ა) Bac. mesentericus; ბ) Bac. megathreium; დ) Bac. cereus; ე) კონტროლი.



სურ 12. Bacillus გვარის მიკრობები (ჰემოლიზი)

ა) Bac. megatherius; ბ) Bac. subtilis; გ) Bac. Mycoides.