

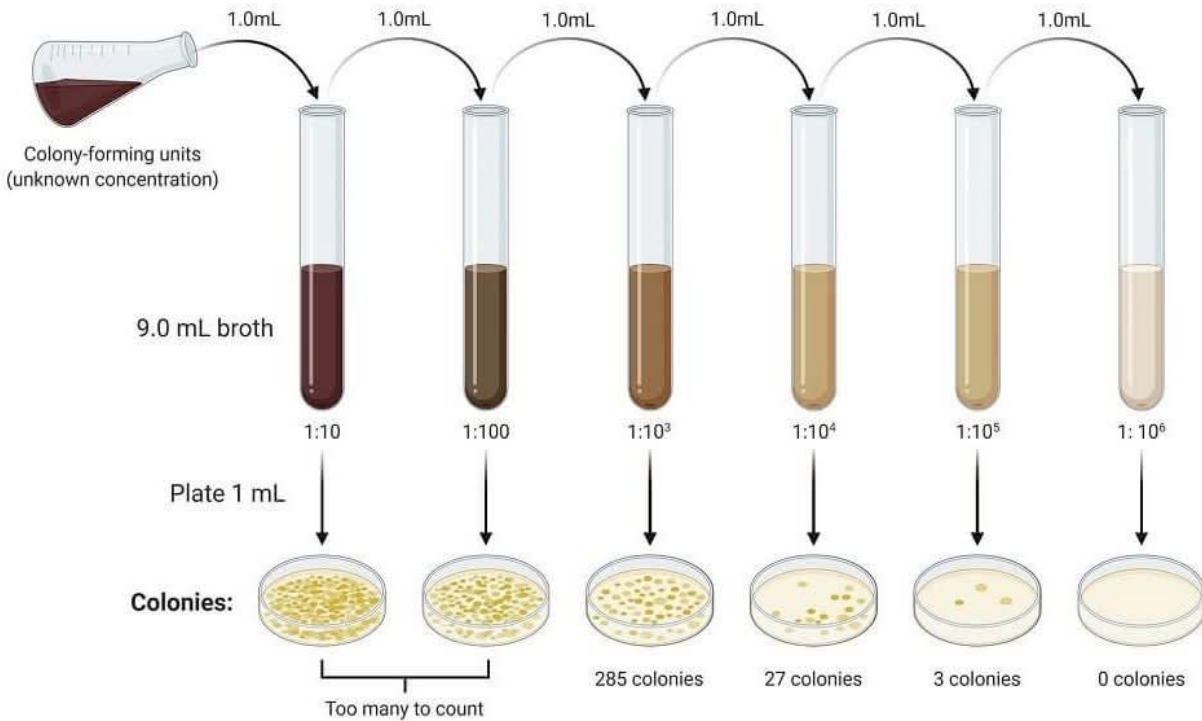
ბაქტერიოფაგი არის ვირუსი რომლის სამიზნეს წარმოადგენს ბაქტერიული უჯრედი.

ზოგადად ვირუსსა და ეუკარიოტულ უჯრედებს შორის ურთიერთქმედების სხვადასხვა ასპექტები (ადსორბცია, ლატენტური პერიოდი, მოსავლიანობა, ციტოპათოგენური ეფექტის გამოვლენა) მოხდა სწორედ ფაგების მაგალითზე, რადგან ეს ცდები უფრო იაფია და სწრაფად მიმდინარეობს.

სწორედ ციტოპათოგენური ეფექტის ვიზუალიზაცია მინდა გაჩვენოთ დღევანდელ ლაბორატორიულზე. ასევე შესაძლებლობა გვექნება ვნახოთ მორფოლოგიურად განსხვავებული ფაგების მიერ წარმოქმნილი კოლონიების მრავალფეროვნება.

ცდისთვის დაგვიჭირდება რომელიმე კომერციული ფაგი (რომელიც მზა სახით წარმოდგენილია ფაგური კოქტეილის სახით, ანუ შეიცავს სხვადასხვა მიკრობის საწინააღმდეგო ფაგს). ასეთ პრეპარატებში ფაგის საერთო ტიტრი. საშუალოდ არ აღემატება $\times 10^6$ -ს. ვიღებთ 6 თანმიმდევრულად დანომრილ სინჯარას, რომელშიც ჩამოსხმულია სტერილური ფიზ/ხსნარი 4,5 მლ ის ოდენობით. პირველ სინჯარაში შეგვაქვს ფაგის სამუშაო განზავება 0,5 მლ–ის ოდენობით და გადავტიტრავთ მეექვსე სინჯარამდე. (გაითვალისწინეთ რომ ყოველ ახალ სინჯარაში შევდივართ ახალი პიპეტით), ანუ ფაგის ტიტრი მცირდება 10ჯერ თითოეულში. ბოლო სამი (4, 5, 6) სინჯარიდან თითო–თითო მლ გადაგვაქვს ახალ სინჯარებში (დანომრილში) და ვუმატებთ მიკრობის სუსპენზიას (შესაბამისი კულტურების 20 სთ იანი ნაზარდი დაირიბებულ აგარზე უნდა ჩამოვრეცხოთ სტერ. 5 მლ ფ/ხ) 2წვეთს, ასევე გამღვალ 0,7% იან გარს, კარგად შევანჯღრევთ და დავიტანთ დანომრილ პეტრის ფინჯნებზე, კარგად გადავანაწილებთ მთელს ზედაპირზე. მოვათავსებთ თერმოსტატში 37° C ზე. ამ მეთოდს ეწოდება **გრაციას ორფენოვანი აგარის მეთოდი**.

Serial Dilution Procedure



$$\text{CFU/mL} = (\text{no. of colonies} \times \text{dilution factor}) / \text{volume of culture plate}$$

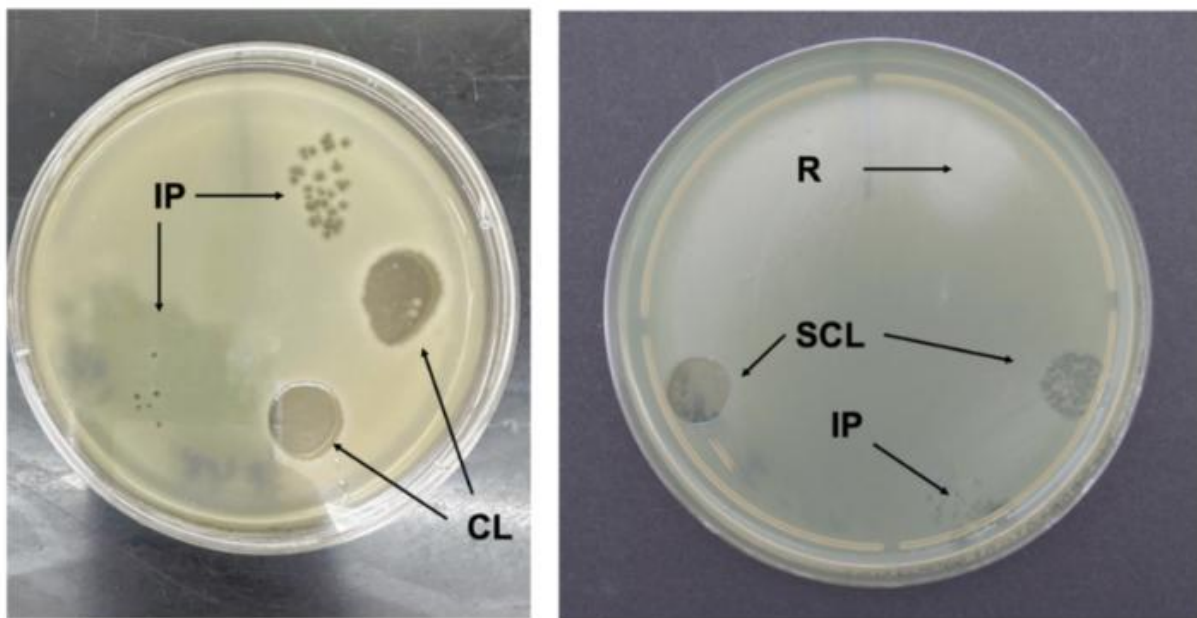
Example: $(285 \text{ colonies} \times 10^3) / 1 = 2.85 \times 10^5 \text{ CFU/mL in sample}$

მეორე დღეს დავათვალიერებთ ფინჯნებს. აგარზე კარგად ვიზუალიზირდება ნეგატიური კოლონიები რომელიც წარმოიქმნა ბაქტერიულ უჯრედებზე ფაგების გამრავლების შედეგად. კარგად დაკვირვების შედეგად შეგიძლიათ განასხვაოთ სხვადასხვა სახეობის ფაგების კოლონიები ერთმანეთისგან. უნდა ვიცოდეთ რომ ვირუსებისგან განსხვავებით ფაგი მთლიანად არ იჭრება სამიზნე უჯრედში, არამედ ვირუსული ფერმენტების ლიზინების საშუალებით ის ხვრეტს ბაქტ. უჯრედის კედელს და თავის გენეტიკურ მასალას – ნუკლეინის მჟავას უშხაპუნებს უჯრედში (შრიცის მსგავსად), ასევე ფაგის ლატენტურ პერიოდს და უჯრედიდან გამოსვლას სჭირდება რამოდენიმე წუთი, ხოლო ადამიანის ვირუსებს საშუალოდ 10 სთ.

ბაქტერიაზე სხვადასხვა ფაგის ლიზისური სპექტრის დადგენა შესაძლებელია შემდეგნაირად: ნიადაგიან პეტრის ფინჯანზე გავთესავთ ბაქტერიულ სუსპენზიას (სუსპენზიის მომზადება აღწერილია ქვემოთ ცდაში) დავაყოვნებთ და ცოტა რომ გაშრება დავიტანთ სხვადასხვა ფაგს 20–20 მკლ ის მოცულობით. მოვათავსებთ თერმოსტატში 18–20

სთ საინკუბაციოდ. მეორე დღეს აღწერით შედეგებს (ფაგომგრძნობელობის შეფასების კრიტერიუმები ქვემოთაა მოყვანილი)

კიდევ ერთი ცდა, რომელიც საშუალებას მოგვცემს განვსაზღვროთ ფაგის ლიზისური სპექტრი შემდეგში მდგომარეობს: ვიღებთ სხვადასხვა ბაქტერიულ კულტურის 18–20 საათიან ნაზარდს, ჩამორეცხავთ 5 მლ სტერილური ფ/ხ. ამ სუსპენზიით აგარის ზედაპირზე გავავლებთ ზოლებს და დავიტანთ სხვადასხვა ფაგის თითო წვეთს, დაველოდებით გაშრობას და მოვათვსებთ თერმოსტატში ინკუბაციისთვის. მეორე დღეს დავათვალიერებთ ფინჯნებს და აღწერით შედეგებს. შესაძლებელია განვითარდეს სხვადასხვა ტიპის ლიზისი რომლებსაც შემდეგნაირად აფასებენ



Different morphologies of lysis zones by BP on *P. aeruginosa* growth (Phagogram) are shown: resistant (R), individual plaques (IP), semi confluent lysis (SCL) and clear lysis (CL).

OL opaque lysis – მღვრიე ლიზისი

CL confluent lysis სრული ლიზისი

SCL semi confluent lysis – ნახევრად ლიზისი

IP individual plaques რამოდენიმე გამჭირვალე კოლონია

ამ მეთოდებს ეწოდება „სპოტ ტესტი“ და იგი საშუალებას გვაძლევს ასევე განვსაზღვროთ ფაგის მასპინძელი უჯრედების სპექტრი.