ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მერაბ ზუხბაია

ბორჯომის ხეობაში არსებული ბუნებრივი სასმელი წყაროების შემოწმება ფაგების შემცველობაზე

სამაგისტრო პროგრამა „გამოყენებითი ბიომეცნიერებები და ბიოტექნოლოგია“

გამოყენებითი ბიომეცნიერებებისა და ბიოტექნოლოგიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია გ.ელიავას სახ. ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტში

ხელმძღვანელი: ბიოლოგიის მეც.დოქტორი ნინა ჭანიშვილი

თბილისი, 2019 წ.

სარჩევი

ანოტაცია ---------- 3

შესავალი ---------- 4

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. E.coli ბაქტერიების ზოგადი მიმოხილვა ---------- 6

1.2. ბაქტერიოფაგების ზოგადი მიმოხილვა ----

1.3. საქართველოს წყლის სტანდარტი--------

1.4 წყლის ფეკალური დაბინძურების გზები

1.4.1 კონტამინაციის ტიპები

1.4.2 დაბინძურების სხვა წყაროები

1.5 ფეკალურ დაბინძურებასთან დაკავშირებული ჯანმრთელობის რისკები

2. მასალა და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტი ----------

2.2 წყლის ნიმუშების აღება----------

2.3 წყლის ნიმუშების შემოწმება კოლიფორმ ბაქტერიებზე----------

2.3.1 ოქსიდაზას ტესტი ----------

2.3.2.ინდოლის ტესტი ---

2.3.3 შედეგების აღრიცხვა

2.4 ბაქტერიოფაგების განსაზღვრა

2.5 მიკრობიოლოგიური კონტროლის ანალიზები

2.5.1 წყლის ნიმუშების ასაღები ბოთლების სტერილიზაციის კონტროლი

2.5.2 საკვები ნიადაგის ხარისხის კონტროლი

2.5.3 მგრძნობელობისა და ზრდის სისწრაფის განსაზღვრა

2.6 ოქსიდაზას ტესტის კონტროლი

---

3. კვლევის შედეგები და განხილვა

დასკვნები ----------

გამოყენებული ლიტერატურა----------

ანოტაცია

წყლის მიკრობიოლოგიური ხარისხის შემოწმებას, ტრადიციული ბაქტერიოლოგიური მეთოდებით, გააჩნია შეზღუდვები, რაც კარგად გამოჩნდა, იმ შემთხვევებში როცა, ნაწლავური დაავადებების გავრცელება მოხდა წყლიდან,მაშინ როცა ის, დასალევად ვარგისად იყო მიჩნეული. შესაბამისად, არსებობს საჭიროება, რომ მოიძებნოს წყლის ფეკალური დაბინძურების ალერნატიული ინდიკატორები.

ბორჯომის ხეობაში, ხუთი ლოკაციიდან მოხდა არა-მინერალური ბუნებრივი სასმელი წყლების შემოწმება E.coli-ის ბაქტერიოფაგზე და მათი შედარება ტრადიციული ბაქტერიოლოგიური მეთოდებით მიღებულ შედეგებთან.

Merab Zukhbaia

Summary

Enumeration of phages in the natural waters of Borjomi valley

Annotation

Microbiological analysis of water quality, with traditional bacteriological methods has it's limitations, which clearly has been shown in cases, were enteric diseases were spread, in cases were water was considered bacteriologically suitable for drinking. Therefore, it is needed to find and use alternative indicators of fecal contamination.

In the Borjomi valley, from five different locations, samples were collected, from natural non-mineral waters. They were examined on the presence of E.coli bacteriophages and were compared to the results of traditional bacteriological methods.

შესავალი

წყლის მიკრობიოლოგიური ხარისხის შესამოწმებლად ფართოდ გავრცელებული მეთოდია მათი შემოწმება ფეკალური დაბინძურების ინდიკატორ ბაქტერიებზე. მიმდინარეობს ანალიზი ტოტალურ კოლიფორმებსა და თერმოტოლერანტულ E.coli-ზე. კოლიფორმ ბაქტერიები გვხვდება როგორც გარემოში (ნიადაგი) ისე ყველა თბილ სისხლიანი ცოველების, მათ შორის ადამიანის ფეკალურ მასაში. ყოფენ სამი ჯგუფის კოლიფორმ ბაქტერიებს: ტოტალურ კოლიფორმებში, ბაქტერიების მრავალი სახეობაა გაერთიანებული. ფეკალური კოლიფორმები წარმოადგენენ ტოტალური კოლიფორმების ისეთ ჯგუფს, რომელიც ფეკალურ მასაში გვხვდება. E.coli ფეკალური კოლიფორმების ქვეჯგუფს წარმოადგენს. ტოტალური კოლიფორმ ბაქტერიების უმეტესობა უვნებელია ადამიანისთვის და ისინი ბუნებრივად სახლობენ გარემოში, შესაბამისად მათი იდენტიფიკაცია ხშირ შემთხვევაში არ მიანიშნებს ფეკალურ დაბინძურებაზე. ფეკალური კოლიფორმები, მათ შორის E.coli ბინადრობს ადამიანის და სხვა ცხოველების ნაწლავებსა და ფეკალურ მასაში, მათი უმრავლესობა ასევე უვნებელია ადამიანისთვის, გარდა ცალკეული შტამებისა, როგორიცაა მაგ. E. coli O157:H7. მიუხედავად იმისა, რომ ამ ბაქტერიების უმეტესობა არ არიან დაავადების გამომწვევები, მათი არსებობა წყალში, მიუთითებს რომ, შესაძლებელია პათოგენური მიკრობებიც იყვნენ წყალში. უმეტესობა პათოგენები, რომელთაც შეუძლია წყალი დააბინძურონ, სწორედ ადამიანის და ცხოველების ფეკალური მასიდან ხვდება. წყლის მიკრობიოლოგიური ხარისხის შემოწმება, ყველა შესაძლო პათოგენზე არის რთული, შრომატევადი და ხარჯიანი. კოლიფორმ ბაქტერიებზე წყლის ანალიზი შედარებით მარტივი და იაფია.

თუმცა, წყლის მიკრობიოლოგიური ხარისხის შემოწმებას კოლიფორმ ბაქტერიებით, გააჩნია თავისი შეზღუდვები, რაც კარგად გამოჩდა იმ შემთხვევებში, როცა ნაწლავური დაავადებების გავრცელება მოხდა წყლიდან, როცა ის სასმელად ვარგისად იყო მიჩნეული.

შესაბამისად, საჭიროა წყლის ფეკალური დაბინძურების ალტერნატიული მეთოდების ძიება.

ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა, წყლის ნიმუშების შემოწმება ფეკალურ დაბინძურებაზე, ორი განსხვავებული მეთოდით: ბაქტერიულით და ფაგურით; მიღებული შედეგების ერთმანეთთან შედარება და სტატისტიკური დამუშავება და შემოწმება თუ რამდენად გამოსადეგია წყლის ფეკალური დაბინძურების განსაზღვრა ბაქტერიოფაგური მეთოდით, როგორც ალტერნატიული ან დამატებითი საშუალება.

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. E.coli ბაქტერიების ზოგადი მიმოხილვა

E.coli წარმოადგენს გრამ-უარყოფით, ფაკულტატურ ანაერობ, ჩხირის ფორმის ბაქტერიას გვარიდან- Escherichia, რომელიც ხშირად გვხვდება თბილ სისხლიანი ცხოველების ნაწლავებში. მისთვის ოპტიმალური ზრდის ტემპერატურას წარმოადგენს 37C ტემპერატურა, თუმცა ზოგიერთი ლაბორატორიული შტამი მრავლდება 49C ტემპერატურაზეც. ის მრავალ ბაქტერიულ ნიადაგზე იზრდება. აღნიშნულ ბაქტერიას აქვს დნმ ტრანსფერის უნარი, ბაქტერიული კონიუგაციის ან ტრანსდუქციის საშუალებით, რომელიც შესაძლებელს ხდის გენეტიკური მასალის ჰორიზონტალური გავრცელების. ტრანსდუქციის პროცესი, რომელიც იყენებს ბაქტერიოფაგს, იყო მიზეზი რატომაც მოხდა

შიგა ტოქსინის მაკოდირებელი გენის გავრცელება შიგელას ბაქტერიიდან E.coli-ზე, რის შედეგადაც წარმოიქმნა შტამი O157:H7.

E.coli მოიცავს ბაქტერიების უზარმაზარ პოპულაციას, რომლებიც მნიშვნელოვნად განსხვავდებიან ერთმანეთისგან, როგორც გენეტიკურად, ისე ფენოტიპურად. ტიპიური E.coli-ის გენების მხოლოდ 20% გვხვდება ყველა შტამში.

უმეტესობა მათგანი უვნებელია ადამიანისთვის ვინაიდან, წარმოადგენენ კუჭ-ნაწლავის ნორმალურ მიკროფლორას. ისინი წარმოქმნიან ვიტამინ K2 -ს და ხელს უშლიან ნაწლავების კოლონიზაციას პათოგენური მიკრობების მიერ. ის გარემოში გამონთავისუფლდება ფეკალურ მასასთან ერთად. E.coli და სხვა ფაკულტატური ანაერობები ქმნიან ნაწლავის მიკროფლორის დაახლოებით 0.1%-ს და ფეკალურ-ორალური გზა არის მთავრი მექანიზმი, პათოგენური შტამების გავრცელების. მათ ურედებს შეუძლიათ ნაწლავების გარეთ გადარჩენა გარკვეული დროის მანძილზე, რაც ხდის მათ ფეკალური დაბინძურების ინდიკატორებს.

კოლიფორმული ბაქტერიები, მიეკუთხვებია Enterobacteriaceae ოჯახს, რომლებიც წარმოქმნიან β-D- გალაქტოსიდაზას.
Esherichia coli არის Enterobacteriaceae წარმომადგენელი, რომლისათვისაც დამახასიათებელია β-D- გალაქტოსიდაზასა და β-D-გლუკორონიდაზას წარმოქმნა.
E.coli გარკვეული შტამები, რომელნიც β-D-გლუკორონიდაზა უარყოფითებია, მაგალითად E.coli 0157, არ მოხდება მისი დეტექტირება E.coli სახით, როგორც β-D- გალაქტოსიდაზა დადებითი, ისინი ქრომოგენულ აგარზე ვლინდებიან კოლიფორმული ბაქტერიების მსგავსად. ე. ი. E.coli წარმოქმნის, როგორც β-D-გალაქტოსიდაზას, ასევე β-D-გლუკორონიდაზას.

1.2 ბაქტერიოფაგების ზოგადი მიმოხილვა

ბაქტერიოფაგი ვირუსია, რომელიც აინფიცირებს და მრავლდება ბაქტერიული უჯრედის შიგნით. ისინი წარმოადგენენ ობლიგატორულ შიდაუჯრედულ პარაზიტებს. მათ არ გააჩნიათ უჯრედული აგებულება, არამედ შედგებიან პროტეინებისგან, რომლებიც გარს აკრავს დნმ-რნმ გენომს და შესაძლოა ქონდეთ მარტივი ან შედარებით რთული სტრუქტურა. მათი გენომი შესაძლოა აკოდირებდეს ძალიან ცოტა გენს (4) ან ზოგიერთი ფაგის შემთხვევაში, რამოდენიმე ასეულს. ბაქტერიოფაგები, ბიოსფეროში ყველაზე მეტად გავრცელებული და მრავალფეროვანი ნაწილაკები არიან. ისინი გვხვდება ყველგან სადაც

ბაქტერია ბინადრობს. მიიჩნევა რომ, მათი რაოდენობა აჭარბებს 10^{31} , რომელიც უფრო მეტია, ვიდრე ყველა ცოცხალი ორგანიზმი ერთად დაჯამებული,მათ შორის ბაქტერიების ჩათვლით. ფაგების ერთ ერთი უხვი ბუნებრივი წყარო არის ზღვის წყალი.

ბაქტერიოფაგები გამრავლების ფორმის მიხედვით იყოფიან ორ ჯგუფად, ლიტიურ ფაგებად და ლიზოგენურ ფაგებად. ამასთანავე, ფაგების მცირე ჯგუფს, შეუძლია ორივე გამრავლების ფორმის გამოყენება.ლიტიური ფაგების შემთხვევაში, ვირიონების რეპლიკაციის შემდეგ ხდება ბაქტერიული უჯრედის ლიზისი. მას შემდეგ რაც უჯრედი მოკვდება, ფაგი იწყებს ახალი მასპინძელი უჯრედის ძიებას.

ლიზოგენური ფაგების შემთხვევაში,მასპინძელი უჯრედის ლიზისი მაშინვე არ დგება, არამედ მათი გენომი ინტეგრირდება მასპინძელი უჯრედის დნმ-ში და რეპლიცირდება მასთან ერთად. რიგ შემთხვევებში, ის შესაძლოა ბაქტერიულ უჯრედში, პლაზმიდის სახითად ჩაეშენოს. ვირუსი „მძინარე“ მდგომარეობაშია, სანამ პირობების გაუარესება არ მოხდება, როგორიცაა მაგ. საკვები ნივთიერებების გამოლევა. რის შემდეგადაც, ენდოგენრუი ფაგები (პროფაგები) აქტიურდებიან. ამ ეტაპისთვის, ისინი იწყებენ გამრავლების ციკლს, რომელიც ბაქტერიული უჯრედის ლიზისით მთავრდება.

ბაქტერიულ უჯრედში შესაღწევად, ფაგები იენებენ ბაქტერიულ ზედაპირზე არსებულ სპეციფიურ რეცეპტორებს, მათ შორის ლიპოპოლისაქარიდებს, ცილებს და ასევე ფლაგელას. რაც ნიშნავს რომ, ბაქტერიოფაგს შეუძლია მხოლოდ კონკრეტული ბაქტერიების ინფიცირება ,რომლის რეცეპტორსაც შეუძლია დაუკავშირდეს. მასპინძლის გამრავლების უნარსაც შეუძლია გავლენა იქონიოს ფაგის უნარზე, რომ დაუკავშირდეს რეცეპტორს. ვინაიდან, ფაგის ვირიონები დამოუკიდებლად ვერ გადაადგილდებიან, ისინი დამოკიდებულები არიან წყალში, ხსნარში და ა.შ რომ, შემთხვევითი მოძრაობების შედეგად, დაუკავშირდებიან სწრო რეცეპტორს.

მიოვირუსების ჯგუფის ბაქტერიოფაგები იყენებენ ჰიპოდერმულ შპრიცის მსგავს მოძრაობას თავიანთი გენეტიკური მასალის უჯრედში ინექციისთვის.

1.3 საქართველოს წყლის სტანდარტი

მიკრობიოლოგიური მაჩვენებლების მიხედვით სასმელად ვარგისი წყალი უნდა აკმაყოფილებდეს შემდეგ პარამეტრებს:

მაჩვენებლის დასახელება	**მაქსიმალურად დასაშვები რაოდენობა, კწე**
მეზოფილურ აერობული და ფაკულტატურ ანაერობული მიკროორგანიზმების რაოდენო-ბა, 1 მლ-ში 22^0C 37^0C	 100 20
საერთო კოლიფორმული ბაქტერიები, 250 მლ-ში	არ დაიშვება
Escherichia coli, 250 მლ-ში	არ დაიშვება
სულფიტმარედუცირებელი კლოსტრიდები (Cl perfringens), 50 მლ-ში	არ დაიშვება
Streptococcus faecalis, 250 მლ-ში	არ დაიშვება
Pseudomonas aeruginosa, 250 მლ-ში	არ დაიშვება
პათოგენები, მათ შორის სალმონელები, 100 მლ -ში	არ დაიშვება

ბუნებრივი წყლისთვის, დასაშვები პარამეტრები ასე გამოიყურება

ინდიკატორი	ბუნებრივი წყალი
მიკრობების საერთო რიცხვი 1 მლ-ში	-
კოლიფორმები 100 მლ-ში	≤ 1000 სასმელ წყალში ≤500 რეკრეაციულ წლი
თერმო-ტოლერანტული კოლოფორმები (E.coli)	≤100

საქართველოს სახელმწიფო სტანდარტის მიხედვით, წყალში ბაქტერიოფაგების დასაშვები რაოდენობის პარამეტრები არაა შემოღებული, მათ შორის არც სასმელი ბოთლში ჩასხმული წყლისთვის, რის შესაცვლელადაც მეტი კვლევებია საჭირო.

1.4 წყლის ფეკალური დაბინძურების გზები

1.4.1 კონტამინაციის ტიპები

ფეკალური დაბინძურება შესაძლებელია დაიოს ორ ჯგუფად, წარმომავლობის მიხედვით : ადამინის და ცხოველრი წარმოშობის. ადამიანის და ცხოველის ფეკალური დაბინძურების ერთმანეთისგან განსხვავება მნიშვნელოვანია, რადგან ადამიანისგან მომავალი ფეკალური დაბინძურება მეტი რისკის მატარებელია ადამიანის ჯანმრთელობისვის, ვიდრე ცხოველური წარმოშობის.

ამასთანავე, კვლევების თანახმად, წყლისგან გამოწვეული დაავადებების ბევრი შემთხვევა გამოწვეულია, მასში არსებული ვირუსებით. ვინაიდან, ვირუსები როგორც წესი, ძლიერ

სპეციფიურები არიან მასპინძელი უჯრედების მიმართ, შეიძლება ვივარაუდოთ დიდი ალბათობით რომ, ისინი მოხვდნენ წალში, სწორედ ადამიანის ფეკალური მასიდან. თუმცა, ასევე უნდა აღინიშნოს რომ, ფეკალური დაბინძურება ცხოველებისგან, არ წარმოადგენს ნულოვან საფრთხეს ადამიანებისათვის, ვინაიდან მათში შესაძლებელია არსებობდეს სხვადასხვა ზოონოზური პათოგენები.

1.4.2 დაბინძურების სხვა წაროები

მიუხედავად იმისა, რომ კოლიფორმები და ენტეროკოკის ბაქტერიებს დიდი ხანია იყენებენ ფეკალური კონტამინაციის ინდიკატორებად, სხვადასხა კვლევების თანახმად, ისინი შესაძლოა ასოცირებული ივნენ არა-ფეკალურ წაროებთანაც. მაგ. Bermu´dez and Hazen(1988) გამოყვეს ნაწლავური კოლიბაქტერიები, რომლის წყაროც თბილ სისხლიანი ცხოველი არ ყოფილა. იგივე შედეგი იქნა მიღებული Harwoodet al.(1999) მიერ, რომელმაც E.coli გამოყო ცივ-სისხლიანი კუების ფეკალური მასიდან.

1.5 ფეკალურ დაბინძურებასთან დაკავშირებული ჯანმრთელობის რისკები

რეკრეაციული წლები როგორც წესი შეიცავს პათოგენურ და არა-პათოგენურ მიკროორგანიზმებს. ეს მიკროორგანიზმები, შესაძლოა წყალში მოხვდა კანალიზაციიდან, შინაური პირუტყვების მიერ, რომელთა ფეკალური მასა ჩადის მიწაში და შესაძლოა შეერიოს გრუნტის წყლებს, ასევე ინდუსტრიული პროცესების შედეგად, მიწათმოქმედების დროს, შინაური ცხოველების (ძაღლები,კატები) და გარეული ცხოველების მიერ. დაბინძურების ამ წყაროებიდან, ალბათობა რომ, წყალში იყოს რომელიმე ტიპის პათოგენური მიკროორგანიზმი არის მაღალი.

სიმპტომები მსგავსი წყლების მიღებიდან გამოწვეული ავადობის დროს, არის შედარებით მსუბუქი და ძნელად იდენტიფიცირებადი. ზოგჯერ, მაშინაც კი როცა, სიმპტომები მწვავეა, გაძნელებულია მიზეზად წყლის დასახელება.

მიკროორგანიზმების რაოდენობა(დოზა) რომელსაც შეუძლია რომ ადამინში გამოიწვიოს ინფექცია, დამოკიდებულია სპეციფიურ პათოგენზე, ამასთანავე დამოკიდებულია თუ რა გზით მოხდა მისი ექსპოზიცია, ადამიაის იმუნურ მდგომარეობასა და სხვა პარამეტრებზე.

ვირუსული და პარაზიტული პროტოზოური დაავადებებისთვის, დოზა შესაძლოა იყოს სულ რამოდენიმე ინფექციური ერთეული.

პათოგენების რაოდენობა წყალში ასევე დამოკიდებულია სეზონურობაზე, ისევე როგორც ადამიანთა და ცხოველთა პოპულაციაში, სპეციფიური პათოგენის მატარებელთა რიცხვის მიხედვით. შედეგად, მსოფლიოს სხვადასხვა კუთხეში, დაავადებათა ტიპი და სიხშირე, არის განსხვავებული.

დღეისათვის არსებული მონაცემებიდან გამომდინარე, ყველაზე ხშირი უარყოფითი გავლენა, რაც მოყვება ფეკალურად დაბინძრებული წყლის მიღებას, არის ენტერული დაავადებები, როგორიცაა გასტროენერიტი, რომლის უმეტესობა შემთხვევები შესაძლოა ვირუსული ეტიოლოგიის იყოს.

ცალკე ყურადღებას იმსახურებს პათოგენური ბაქტერიების ორი წარმომადგენელი, E.coli-ის პათოგენური შტამი და Shigella sonnei, რომლებიც რამოდენიმე მოშხამვური „აფეთქების“ მიზეზები იყვნენ.

თავი 2. მასალა და მეთოდები

2.1 კვლევის ობიექტი

კვლევის ობიექტი - ბოჯრომის ხეობაში არსებული ბუნებრივი სასმელი წყლის ნიმუშები

2.2 წყლის ნიმუშების აღება

ბორჯომის ხეობის 5 სოფელში შეირჩა ლოკაციები, სადაც ბუნებრივი წყალო მოდიოდა. ასევე უნდა აღინიშნოს რომ, ლოკაციები შემთხვევითობის პრინციპით არ არჩეულა, არამედ სპეციალურად ვეძებედით, ისეთ ადგილებს სადაც ფეკალური დაბინძურების მეტი ალბათობა იქნებოდა. წყაროები შეირჩა შემდეგ სოფლებში : საკირე, დვირი, ტბა, პლატო, სადგერი. თითოეული მათგანიდან მოხდა ნიმუშების ანალიზი 6-ჯერ, მაისი-ივნისი-ივლისი თვეების განმავლობაში, 2-2 კვირის ინტერვალით.

წყლის ნიმუშების აღება მოხდა 1 ლ სტერილურ ჭურჭლებში, რომლებიც მოთავსდა სპეციალურ კალათაში, რომელშიც ნარჩუნდება დაბალი ტემპერატურა და შემდგომში მოხდა მათი ტრანსპორტირება ლაბორატორიაში.
ანალიზები ჩატარდა არაუგვიანეს 6 სთ-ში.

2.3. წყლის ნიმუშების შემოწმება კოლიფორმ ბაქტერიებზე

ფეკალური დაბინძურების განსაზღვრა მნიშვნელოვანი ფაქტორია წყლის ხარისხის შესაფასებლად. აღნიშნული დაბინძურება ინფექციის საფრთხეს უქმნის ადამიანს. E. coli ბინადრობს ადამიანისა და ძუძუმწოვართა ნაწლავებში, შესაბამისად, მაღალი რისკია წყლის დაბინძურება აღნიშნული მიკროორგანიზმით. რაც შეეხება Coliform მიკროორგანიზმებს წყალში, შესაძლოა ყოველთვის ნაწლავური გზით არ მოხდეს, რადგან აღნიშნული მიკროორგანიზმები ცხოვრობენ ნიადაგში, მტკნარი წყლის ზედაპირებაზე და სხვა. ამიტომ, მათი იდენტიფიკაცია, შესაბამისად, უფრო რთულია. ამრიგად, აღნიშნული მიკრობიოლოგიური დაბინძურებები სხვადასხვა წარმოშობისაა, მხოლოდ გამოყოფილი შტამების იდენტიფიცირების საშუალებით შეიძლება განისაზღვროს მათი წარმოშობა.

მეთოდის მიზანია, გარკვეული მოცულობის წყლიდან, მემბრანული ფილტრის ზედაპირზე დაკავებული ტოტალური კოლიფორმებისა და თერმოტოლერანტული E.coli-ს შესაბამის ნიადაგებზე ინკუბირებული და გაზრდილი კოლონიების მორფოლოგიურ-ბიოქიმიური თვისებების განსაზღვრის საფუძველზე მათი შემდგომი იდენტიფიკაცია.

სინჯის განსაზღვრულ მოცულობას ვფილტრავთ სტერილურ მემბრანულ ფილტრში, რომლის ზედაპირზე რჩება მიკროორგანიზმები; ვათავსებთ პეტრის ფინჯნებზე მოთავსებულ ქრომოგენ კოლიფორმულ აგარზე და ინკუბირებას ვახდენთ ოპტიმალურ $36^0C \pm 2^0C$ გარემო პირობებში, თერმოსტატში, 21±3 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შედეგად ინდიკატორი ორგანიზმები იზრდებიან დამახასიათებელი მორფოლოგიითა და ფერით. β-D- გალაქტოსიდაზა დადებითი კოლონიები რომლებიც ხასიათდებიან მოვარდისფრო-მოწითალო ფერით, სავარაუდოდ არიან ნაწლავის ჯგუფის ბაქტერიები და არ ჩაითვალებიან E. coli-ად. ასეთი კოლონიების რაოდენობა პირდაპირ მიუთითებს წყლის აღნიშნულ მოცულობაში ინდიკატორი მიკროორგანიზმების რიცხვზე. საჭიროების შემთხვევაში ტარდება გაზრდილი კოლონიების დამადასტურებელი ტესტირება. ცრუ-დადებითი შედეგების გამოსარიცხად, რომელიც გამოწვეული ოქსიდაზა დადებითი ბაქტერიების მიერ, მაგალითად, Aeromonas spp., სავარაუდო კოლონიების დადასტურება უნდა მოხდეს ოქსიდაზას ტესტით, ოქსიდაზა უარყოფითი რეაქციის საფუძველზე. დაითვლება β-D- გალაქტოსიდაზა და β-D-გლუკორონიდაზა დადებითი კოლონიები, მუქი ლურჯიდან იისფერამდე, რომლებიც დასტურდება, როგორც E. coli.

მეთოდი დაფუძნებულია მემბრანულ ფილტრაციაზე, რის შემდგომ ხდება მემბრანული ფილტრის გადატანა ქრომოგენ კოლიფორმულ ნიადაგზე და მათი შემდგომი ინკუბირება 21±3 საათის განმავლობაში 36±2 °C-ის ტემპარატურის პირობებში.

აღირიცხება და დაითვლება ყველა ვარდისფერიდან მოწითალო ფერის კოლონიები, როგორც სავარაუდო Coliform მიკროორგანიზმები, რომლებიც არ არიან E.coli. მცდარი დადებითი პასუხების გამოსარიცხად, რაც შესაძლებელია

გამოიწვეული იქნას ოქსიდაზა დადებითმა ბაქტერიების გაზრდით, როგორიცაა მაგ. Aeromonas spp, სავარაუდო კოლონიები, აუცილებლად, დადასტურებულ უნდა იქნან ოქსიდაზას უარყოფითი რეაქციით.
რაც შეეხება, E.coli მიკროორგანიზმებს, აღირიცხებიან ყველა მუქი ლურჯიდან იისფერი შეფერილობის კოლონიების ჩათვლით.

ინკუბაციის შემდეგ ხდება კოლოფორმების რაოდენობრივი განსაზღვრა. მემბრანული ფილტრის ზედაპირზე არსებული ყველა დამახასიათებელი კოლონია დაითვლება და სავარაუდო კოლიფორმ ბაქტერიების დადასტურების მიზნით, საჭიროა ჩატარდეს ოქსიდაზური ტესტი. მემბრანულის ფილტრის დათვალიერებისას, დაითვალეთ ყველა ვარდისფერიდან მოწითალო შეფერილობის კოლონია, როგორც სავარაუდო კოლიფორმ ბაქტერია. დაითვალეთ ყველა მუქი ლურჯიდან იისფერი შეფერილობის კოლონია, როგორც E.coli.

ქრომოგენული ბაქტერიოლოგიური არე შეცავს უფერო ხსნად მოლეკულებს - ქრომოგენებს. ქრომოგენები 2 ნაწილსაგან შედგებიან: სუბსტრატისგან (რომელიც მიკროორგანიზმის ფერმენტატული აქტივობის სამიზნეა) და ქრომოფორისაგან. მიკროორგანიზმის მიერ გამომუშავებული სპეციფიკური ენზიმის ზეგავლენით სუბსტრატსა და ქრომოფორს შორის არსებული ბმა წყდება, ქრომოფორი თავისუფლდება და იღებს გარკვეულ შეფერილობას. ვინაიდან ქრომოფორი უხსნადია ამ შეფერილობას იგი ბაქტერიულ კოლონიასაც სძენს.

კოლიფორმ კოლონიების (ტოტალური კოლიფორმები) დადასტურება ხდება ყველა ძირითადი ან მინიმუმ 10 შერჩეული დამახასიათებელი ფერის კოლონიების სუბკულტივირებით არასელექტიურ ტრიპტონ სოიოს (TSA) აგარზე.
საჭიროების შემთხვევაში, თერმოტოლერანტული E. coli დადასტურება ხდება ტრიფტოფანის ბულიონში, ინდოლის ტესტის მიხედვით.
ტოტალური კოლიფორმები და თერმოტოლერანტული E. coli ოქსიდაზა ნეგატიურნი არიან.

2.3.1 ოქსიდაზას ტესტის ჩატარება

ოქსიდაზას ტესტის ჩასატარებლად უნდა მოხდეს არასელექტიური ტრიფტონ სოიოს აგარის (TSA) ინკუბირება 21±3 საათის განმავლობაში $37^0C \pm 1^0C$ ტემპერატურის პირობებში. ფილტრის ქაღალდი თავსდება სუფთა სტერილურ პეტრის ფინჯანში, რაც უნდა დასველდეს ოქსიდაზური ტესტის რეაქტივში, ან თავსდება უშუალოდ ოქსიდაზას განმსაზღვრელი მზა ტესტი. სტერილური მარყუჟით, მინის, ხის აპლიკატორის ან პლასტმასის წკირის მეშვეობით

იზოლირებული კოლონია გადატანილ უნდა იქნას ოქსიდაზური რეაგენტით დასველებულ ფილტრზე ან ოქსიდაზას მზა ტესტზე, სიგრძივი შტრიხის სახით. 5-30 წამში მუქი ლურჯი ან მეწამულისფერი შეფერვა მიუთითებს ოქსიდაზურ დადებით რეაქციაზე, რაც კოლიფორმული მიკროორგანიზმების არარსებობას მიუთითებს. უნდა მოხდეს მხოლოდ იმ კოლონიების აღრიცხვა, რომლებიც უარყოფით ოქსიდაზას რეაქციას, ოქსიდაზურ ტესტს ფერს არ უცვლიან. სწორედ, ესენი მიიჩნევიან კოლიფორმ ბაქტერიებად. ამრიგად, ტოტალური კოლიფორმები და E.coli ოქსიდაზა ნეგატიურია.

2.3.2 ინდოლის ტესტი (საჭიროების შემთხვევაში)

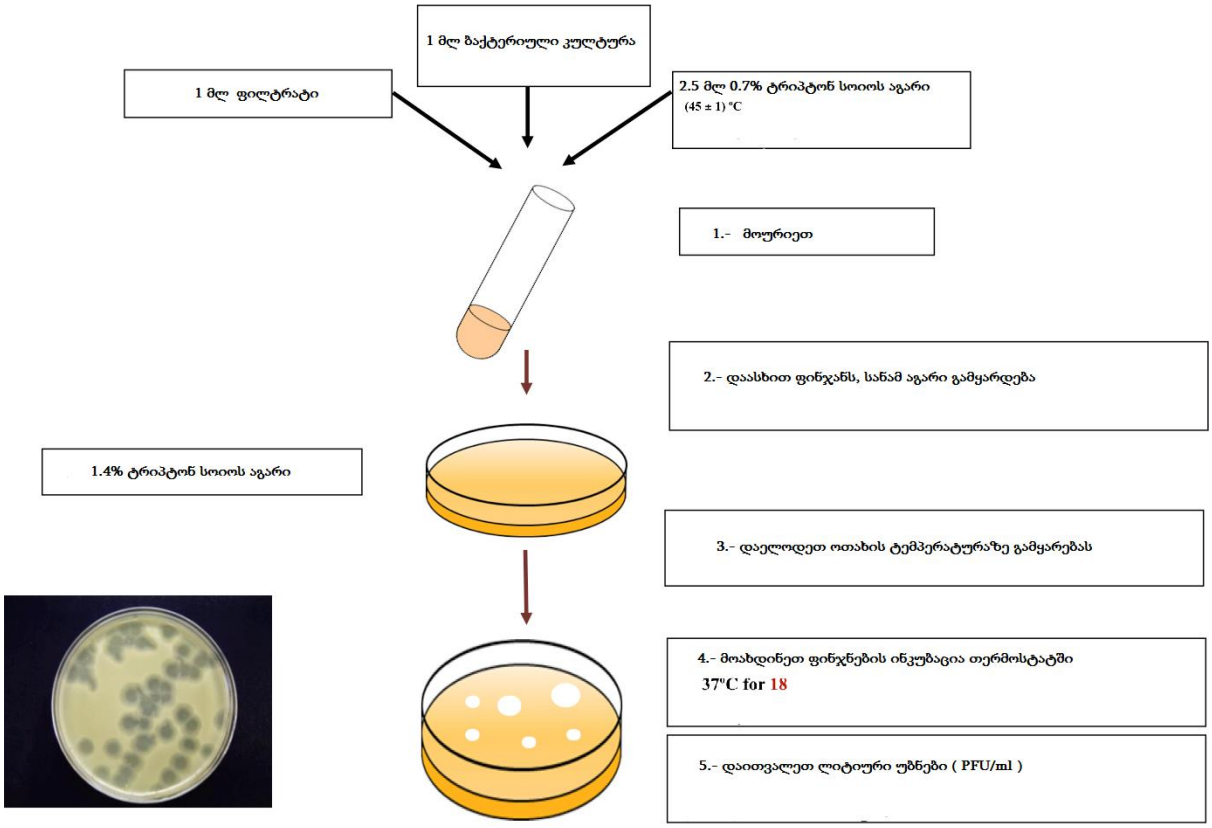
მოახდინეთ 36^{0}C ± 1^{0}C ინკუბირებული შერჩეული E.coli β-D-გლუკორონიდაზა დადებითი ლურჯ-იისფერი კოლონიების სუბკულტივირდება ტრიფტოფანის ბულიონში, რაც მოთავსებულია 5-5 მლ მოცულობით შესაბამის სინჯარებში. 44^{0}C ± 0.5^{0}C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში. ამის შემდეგ, მოწმდება ინდოლის წარმოქმნა, რის გამოც, ინკუბირებულ ბულიონს ემატება 0,2-0,3 მლ კოვაქსის რეაგენტი. ზედა ფენაზე მოწითალო ფერის გაჩენა მიუთითებს ეშერიხია კოლის არსებობის დადასტურებას.

2.3.3 შედეგების აღრიცხვა

შედეგების აღრიცხვა ხდება ISO 8199 სტანდარტის შესაბამისად.
მემბრანულ ფილტრებზე თუ არ აღინიშნება არც ტოტალური კოლიფორმებისა და არც თერმოტოლერანტული მიკროორგანიზმების ზრდა, პასუხად მივუთითებთ, რომ „არ აღმოჩნდა.“
ყველა საეჭვო კოლონიებს იდენტიფიკაციისას ტოტალური კოლიფორმული და თერმოტოლერანტული მიკროორგანიზმების წარმოქმნილი ერთეულების (კწე) რაოდენობას ვთვლით და გამოვსახავთ კწე გარკვეული მოცულობების წყალში.

2.4 ბაქტერიოფაგების განსაზღვრა

90 მლ-ს უმატებენ 10 მლ კონცენტრირებულ ბულიონს და 1 მლ წინასწარ შერჩეული ინდიკატორული კულტურების ნარევს, რომლის მიმართაც აქტიური ბაქტერიოფაგი უნდა გამოიყოს. თერმოსტატში 37^{0}C-ზე 18 სთ ინკუბაციის შემდეგ ნარევს აცენტრიფუგებენ 5 000 g 30-40 წთ-ით და სუპერნატანტს ფილტრავენ 0.2 μm ზომის ფორებით. ფილტრატს ამატებენ 2-3 წვეთ ქლოროფორმს და ხდება მიღებული ფილტრატის შემოწმება ფაგების შემცველობაზე. შემდგომ, ფაგების ტიტრის განსაზღვრა მიმდინარეობს ორმაგი აგარის ფენის მეთოდით. 1 მლ ფლტრატს ვურევთ 1 მლ წინასწარ შერჩეულ, ჩვენთვის საინტერესო ბაქტერიულ კულტურას (ჩვენს შემთხვევაში გამოყენეულ იქნა *E. coli* ATCC 13706 შტამი) და 2.5 მლ 0.7% ტრიპტონ სოიოს ბულიონს, რომელსაც ზედ დავასხავთ პეტრის ფინჯანს, რომელზეც წინასწარ უკვე დასხმულია 1.4%-იანი ტრიპტონ სოიოს ბულიონი. ველოდებით აგარის გამარებას და შემდგომ ვახდენთ მის ინკუბაციას 37 C ტემპერატურაზე, 18 სთ განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ აგარის ზედაპირზე ვიღებთ გამჭვირვალე ზონებს, რომელიც ფაგის ერთ ინფექციურ ნაწილაკს შეესაბამება. შედეგები აღირიცება როგორც Plague forming untis (PFU)/ml



2.5 მიკრობიოლოგიური კონტროლის ანალიზები

2.5.1 წყლის ნიმუშების ასაღები ბოთლების სტერილიზაციის კონტროლი

წყლის ნიმუშების ასაღები ბოთლების სტერილიზაციის კონტროლი მიმდინარეობს ბაქტერიების საერთო მოთესვიანობასა და სულფიდმარედუცირებელ ქლოსტრიდიებზე.

ანალიზს ვაწარმოებთ ბოქსში.

- გამოცდის წინ ვახდენთ ბოქსის დეზინფექციას;

- ვრთავთ ბაქტერიოციდურ ნათურას (დეზინფექციიდან 1,5-2 სთ-ის შემდეგ);

სამუშაო პროცედურას ვაწარმოებთ ხელთათმანებით, რომელიც მუშავდება 70 %-იანი ეთილის სპირტით.

ამ დროს, პარალელურად, ვახდენთ ჰაერის მოთესვიანობის კონტროლს, შესაბამისი

ინსტრუქციის მიხედვით. შედეგების ვაფიქსირებთ რეგისტრაციის ფურცელზე და

ვადასტურებთ ხელმოწერით.

საკვები ბულიონის სტერილობა მოითხოვს წინასწარ კონტროლს, რისთვისაც ვახდენთ

ბულიონის ორი სინჯარის ინკუბირებას 37 0 C ± 1 0 C ტემპერატურის პირობებში, 48 საათის განმავლობაში. მიკროორგანიზმთა ზრდის შემთხვევაში ბულიონი არავარგისიანად ითვლება. რაც შეეხება საკვებ აგარისა და რკინასულფიტიანი აგარის კონტროლს, მას ვაწარმოებთ კვლევის პროცესში, უარყოფითი კონტროლის გზით

ბოქსში შესვლამდე ვიბანთ ხელების საპნით;საერთო მოთესვიანობის კონტროლისთვის, საანალიზო ბოთლებში ვათავსებთ მისი საერთო მოცულობის 20% საკვები ბულიონი. ე. ი. 250 მლ - 50 მლ, 500 მლ - 100 მლ, 1000 მლ - 200 მლ. ფლაკონებს ვაფარებთ სტერილურ საცობებს. სამჯერადი შენჯღრევის შემდეგ, ვახდენთ მათ ინკუბირებას თერმოსტატში, 37C±1C-ს ტემპერატურის პირობებში, 48 საათის განმავლობაში. ბულიონის შემღვრევა მის არასტერილობას მიუთითებს. გამჭვირვალობის შემთხვევაში ვაწარმოებთ ბულიონის ზრდის კონტროლს, რისთვისაც თითოეული ფლაკონიდან ვიღებთ 1 მლ შიგთავსს და ვათავსებთ სტერილური პეტრის ფინჯანში, რასაც ვამატებთ და კარგად ვურევთ საკვებ აგარს. პარალელურად, აგარის სტერილობის კონტროლისათვის ვახდენთ მისი სტერილურობის უარყოფით კონტროლს. ნათესების ინკუბირებს ვაწარმოებთ თერმოსტატში, 37 0 C ± 1 0 C ტემპერატურის პირობებში, 48 საათის განმავლობაში. ბაქტერიების ზრდა გამოსაკვლევ ფინჯნებზე, მიუთითებს ფლაკონების არასტერილურობაზე.

ქლოსტრიდიების კონტროლის შემთვევაში, საკვლევ ფლაკონებში ვასხამთ ონკანის სტერილურ წყალს, მისი მოცულობის 20%-ის ოდენობით. მჭიდროდ ვაფარებთ სტერილურ თავსაფარს და ვატრიალებთ სამჯერ. ნიმუშსვფილტრავთ საფილტრ აპარატში, ასევე 100 მლ სტერილური ონკანის წყალს (უარყოფითიკონტროლი) ვფილტრავთ იმავე ძაბრში, სრული მოცულობით, მხოლოდ სხვა მემბრანულფილტრში.

ორივე ფილტრი ინკუბირდება 37C±1C ტემპერატურის პირობებში, 48 საათისგანმავლობაში, ისე, როგორც ხდება სულფიდმარედუცირებელი ქლოსტრიდიას სპორების კვლევა.

2.5.2 საკვები ნიადაგის ხარისხის კონტროლი

მზა საკვები ნიადაგების წინაპირობაა სტერილობის კონტროლი, რაც საკვლევი ნიადაგიანი ფინჯნის ან სინჯარის ინკუბირებით ხორციელდება თერმოსტატებში, იმ ტემპერატურისა და დროის მიხედვით, რაც ნიადაგის დოკუმენტაციაშია მითითებული. ინკუბაციის დასრულებისას პეტრის ფინჯანსა თუ სინჯარაში არანაირი მიკრობის კვალი უნდა აღინიშნებოდეს.

ბიოლოგიური კონტროლს ვახორციელებთ შემდეგ მაჩვენებლებზე:

- მგრძნობელობა - ტესტ კულტურის მაქსიმალური განზავების დროსაც კი აღინიშნება მათი კოლონიების ზრდა;

- ზრდის სისწრაფე - ინკუბაციის მინიმალური დრო;

- მადიფერენცირებელი თვისება - ტესტ შტამების ზრდა;

- ინჰიბიციის მაჩვენებელი - მიკროფლორაზე დამთრგუნავი მოქმედების ხარისხი,

გამოისახება მინიმალური განზავებით, რომლის დროსაც არ აღინიშნება გარეშე ფლორის ზრდა. ნიადაგის ბიოლოგიური თვისებების დასადგენად ვიყენებთ E.coli-ის შტამს. ხარისხობრივი კონტროლის შესაფასებლად ხდება ტესტ-შტამების გადათესვა, რომლის ინკუბაცის წარმოებს თერმოსტატში 37±1 0 C ტემპერატურაზე, 18-24 სთ-ის განმავლობაში. ნიადაგი ჩაითვლება ვარგისიანად, თუ ინკუბაციის დამთავრების შემდეგ აღინიშნება ტესტ-შტამის კარგი ზრდა. რაოდენობრივი კვლევისათვის გამოიყენება ახლად მომზადებულ ნიადაგები, რომელთა დამზადება მათი ინსტრუქციების შესაბამისად ხდება. ნიადაგები ისხმევა პეტრის ფინჯნებში არა უმცირესი 2მმ სისქისა, რომლებიც უნდა გაშრეს ასეპტიკუტად. მაინჰიბირებელი და სადიფერენციაციო თვისებების გასაკონტროლირებლად საჭიროა საკვები აგარის გამოყენება. გამხსნელად გამოიყენება ფიზიოლოგიური ხსნარი ან რინგერი.

საკონტროლო კულტურის ზრდის სისწრაფე ნათესების ინკუბაციის მინიმალურ დროა, რომლის დროსაც შესაბამისი განზავებიდან ყველა დათესილ ფინჯანზე უზრუნველყოფილია კოლონიათა მკვეთრად შესამჩნევი ზრდა. შედეგი აისახება ნიადაგების ბიოლოგიური მაჩვენებლების რეგისტრაციის ფურცელზე. ინჰიბიციის მაჩვენებელი - გარეშე მიკროფლორაზე დამთრგუნავი მოქმედების ხარისხი გამოისახება იმ მინიმალური განზავებით, რომლის დროსაც გარეშე მიკროფლორის ზრდა არ აღინიშნება. ენდოს ნიადაგის მაინჰიბირებელი თვისებების დასადგენად გამოიყენება Staphylococcus aureus-ის შტამი (ინოკულანტის მომზადების მეთოდი).

ტესტ მიკროორგანიზმს წარმოადგენს E.coli.

ორი დღით ადრე ტესტ-კულტურას ვთესავთ ირიბ აგარზე. მეორე დღეს სიმღვრივის სტანდარტის მიხედვით ვამზადებთ ტესტ-შტამის სუსპენზიას კონცენტრაციით 10 9 კოლ/მლ-ში და ვაწარმოებთ სერიულ განზავებებს. მე-6 და მე-7 განზავებებიდან 0.1მლ სუსპენზიას ვთესავთ შპატელით, წინასწარ გამშრალ 3-3 ფინჯანზე. ფინჯნებს ვათავსებთ თერმოსტატში 37 ± 1 0 C ტემპერატურაზე 18-24 სთ-ის განმავლობაში. კვლევის დღეს თითეული სერიული ნათესისათვის ვითვლით კოლონიების საშუალო რაოდენობას. ზუსტი განზავების შემთხვევაში, მე-6 განზავებაში ტესტ შტამის რაოდენობა შეადგენს 100 კწე. მე-6 და მე-7 განზავებებიდან მიღებული კოლონიების რაოდენობის შეფარდება შესაბამისად უნდა იყოს 10:1. თანაფარდობის დარღვევის შემთხვევაში, ინოკულანტი უვარგისად ითვლება და ვიმეორებთ ინოკულანტის მომზადების პროცედურას ხელახლა. განზავებების სწორი მომზადებისას მე-6 განზავებიდან თითოეულ ფინჯანზე კოლონიების რაოდენობა უნდა შეადგენდეს 50-100-ს.

2.5.3 მგრძნობელობისა და ზრდის სისწრაფის განსაზღვრა:

„მგრძნობელობისა“ და ,,ზრდის სისწრაფი“ მაჩვენებლის განსაზღვრისას ვიყენებთ მე-5, მე-6, მე-7 და მე-8 განზავებებს. თითოეული განზავებიდან ვიღებთ 0.1მლ სუსპენზიას და შპატელით ვთესავთ წინასწარ გამშრალ 3 ფინჯანზე. ფინჯნების ინკუბირებას ვახდენთ თერმოსტატში 37±1 0 C ტემპერატურაზე, 18-24 სთ-ის განმავლობაში.

შედეგების შეფასებისათვის „მგრძნობელობა“ უნდა შეადგენდეს არა უმცირეს 0.1მლ-ს მე-6 განზავებიდან. შედეგი დადებითია, როცა 6-დან 5 ფინჯანზე აღინიშნება მიკროორგანიზმთა ზრდა საკონტროლო კულტურის ,,ზრდის სისწრაფე“ დადებითია, თუ ნათესების ინკუბაციის მინიმალური დროის შემდეგ, შესაბამისი განზავებიდან, ყველა დათესილ ფინჯანზე ადგილი აქვს მიკრობთა მკვეთრად შესამჩნევი ზრდა. შედეგი შეგვაქვს საკვები ნიადაგების ბიოლოგიური მაჩვენებლების შეფასების ჟურნალში.

2.6 ოქსიდაზას ტესტის კონტროლი

ოქსიდაზას ტესტის კონტროლი ხდება ბაქტერიული კულტურების გამოენებით. ვიღებთ E.coli შტამს, რომელიც ცნობილია რომ ოქსიდაზა უარყოფითია და ასევე Pseudomona aeroginosa შტამს, რომელიც არის ოქსიდაზა დადებითი ბაქტერია.

E.coli შემთხევაში, ოქსიდაზამ ფერი არ უნდა შეიცვალოს, ხოლო ფსეუდომონას შტამის გამოყენებისას უნდა მოხდეს ფერის ცვლილება და წარმოიქმნას ლურჯი ფერი 20 წამის განმავლობაში, უფრო გვიან შეცვლილი ფერის უარყოფას ვახდენთ.

თავი 3. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

წყლის ნიმუშებში E.coli და კოლიფაების რაოდენობრივი ანალიზის შედეგად მიღებული შედეგების დამუშავება მოხდა სტატისტიკური პროგრამა IBM SPSS 23.0-ით, კერძოდ ჩატარდა ერთფაქტორიანი დისპერსიული ანალიზი (One-Way ANOVA), სტიუდენტის t-დამოკიდებული ტესტი და კორელაციური ანალიზი.

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
E.Coli (CFU)	Source 1	6	65.17	19.773	8.072	44.42	85.92	32	92
	Source 2	6	112.83	47.537	19.407	62.95	162.72	69	193
	Source 3	6	103.17	25.872	10.562	76.02	130.32	74	150
	Source 4	6	11.67	5.465	2.231	5.93	17.40	6	21
	Source 5	6	24.50	15.821	6.459	7.90	41.10	9	49
	Total	30	63.47	48.176	8.796	45.48	81.46	6	193
Coliphage (PFU)	Source 1	6	89.83	28.344	11.571	60.09	119.58	49	124
	Source 2	6	132.50	38.909	15.884	91.67	173.33	91	187
	Source 3	6	122.17	38.400	15.677	81.87	162.47	86	196
	Source 4	6	26.00	9.737	3.975	15.78	36.22	15	40
	Source 5	6	50.17	35.986	14.691	12.40	87.93	17	96
	Total	30	84.13	51.199	9.348	65.02	103.25	15	196

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
E.Coli (CFU)	Between Groups	49306.133	4	12326.533	**17.119**	**.000**
	Within Groups	18001.333	25	720.053		
	Total	67307.467	29			
Coliphage (PFU)	Between Groups	50109.467	4	12527.367	**12.088**	**.000**
	Within Groups	25908.000	25	1036.320		
	Total	76017.467	29			

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Source	(J) Source	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
E.Coli (CFU)	Source 1	Source 2	-47.667*	15.493	**.037**	-93.17	-2.17
		Source 3	-38.000	15.493	.134	-83.50	7.50
		Source 4	53.500*	15.493	**.015**	8.00	99.00
		Source 5	40.667	15.493	.096	-4.83	86.17
	Source 2	Source 1	47.667*	15.493	**.037**	2.17	93.17
		Source 3	9.667	15.493	.970	-35.83	55.17
		Source 4	101.167*	15.493	**.000**	55.67	146.67
		Source 5	88.333*	15.493	**.000**	42.83	133.83
	Source 3	Source 1	38.000	15.493	.134	-7.50	83.50
		Source 2	-9.667	15.493	.970	-55.17	35.83
		Source 4	91.500*	15.493	**.000**	46.00	137.00
		Source 5	78.667*	15.493	**.000**	33.17	124.17
	Source 4	Source 1	-53.500*	15.493	.015	-99.00	-8.00
		Source 2	-101.167*	15.493	**.000**	-146.67	-55.67
		Source 3	-91.500*	15.493	**.000**	-137.00	-46.00
		Source 5	-12.833	15.493	.919	-58.33	32.67
	Source 5	Source 1	-40.667	15.493	.096	-86.17	4.83
		Source 2	-88.333*	15.493	**.000**	-133.83	-42.83
		Source 3	-78.667*	15.493	**.000**	-124.17	-33.17
		Source 4	12.833	15.493	.919	-32.67	58.33
Coliphage (PFU)	Source 1	Source 2	-42.667	18.586	.180	-97.25	11.92
		Source 3	-32.333	18.586	.429	-86.92	22.25
		Source 4	63.833*	18.586	**.016**	9.25	118.42
		Source 5	39.667	18.586	.238	-14.92	94.25
	Source 2	Source 1	42.667	18.586	.180	-11.92	97.25
		Source 3	10.333	18.586	.980	-44.25	64.92
		Source 4	106.500*	18.586	**.000**	51.92	161.08
		Source 5	82.333*	18.586	**.001**	27.75	136.92
	Source 3	Source 1	32.333	18.586	.429	-22.25	86.92
		Source 2	-10.333	18.586	.980	-64.92	44.25
		Source 4	96.167*	18.586	**.000**	41.58	150.75
		Source 5	72.000*	18.586	**.006**	17.42	126.58
	Source 4	Source 1	-63.833*	18.586	.016	-118.42	-9.25
		Source 2	-106.500*	18.586	**.000**	-161.08	-51.92
		Source 3	-96.167*	18.586	**.000**	-150.75	-41.58
		Source 5	-24.167	18.586	.693	-78.75	30.42
	Source 5	Source 1	-39.667	18.586	.238	-94.25	14.92
		Source 2	-82.333*	18.586	**.001**	-136.92	-27.75
		Source 3	-72.000*	18.586	**.006**	-126.58	-17.42
		Source 4	24.167	18.586	.693	-30.42	78.75

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	E.Coli (CFU) & Coliphage (PFU)	6	.934	.006

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	E.Coli (CFU) & Coliphage (PFU)	6	.961	.002

Paired Samples Correlations

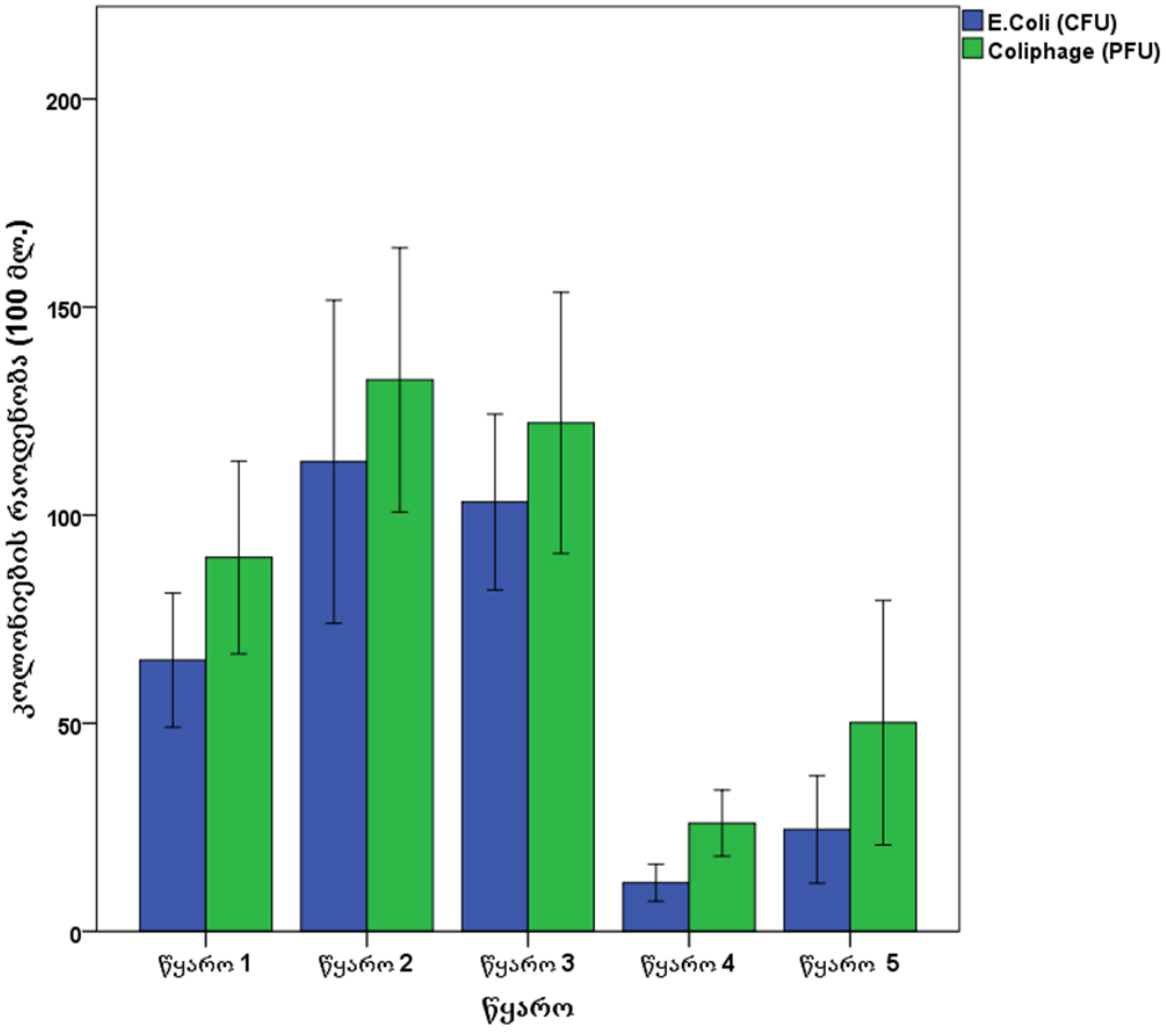
		N	Correlation	Sig.
Pair 1	E.Coli (CFU) & Coliphage (PFU)	6	.869	.025

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	E.Coli (CFU) & Coliphage (PFU)	6	.913	.011

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	E.Coli (CFU) & Coliphage (PFU)	6	.969	.001



მიღებული მონაცემების მიხედვით, კოლიფაგებისა და E.coli რაოდენობრივი განსხვავება სტატისტიკურად სარწმუნოა, როგორც მთლიანი მონაცემების დამუშავებისას ისე, ცალკეულ წაროებშიც. კერძოდ, კოლიფაგების რაოდენობა აღემატებოდა E.coli რაოდენობას. ეს განსხვავება ყველა წაროში სტატისტიკურად სარწმუნო იყო, გარდა მესამე წყაროდან მიღებული მონაცემებისა.

ინდიკატორი	სტანდარტულად დასაშვები რაოდენობა	ბუნებრივი წყალი #1 სოფ. პლატო	ბუნებრივი წყალი #2 სოფ.დვირი	ბუნებრივი წყალი #3 სოფ.საკირე	ბუნებრივი წყალი #4 სოფ.ტბა	ბუნებრივი წყალი #5 სოფ.სადგერი
თერმო-ტოლერანტული კოლოფორმები (E.coli) 100 მლ	≤100	65	112	103	11	24
E.coli სპეციფიკური ფაგების რაოდენობა 100 მლ	-	89	132	122	26	50

E.coli-ს რაოდენობა (საშუალო) დასაშვებ საზღვრებზე მეტი იყო მე-2 და მე-3 წყაროებში (≤100) ვინიდან ფეკალური დაბინძურების ინდიკატორი და ფაგების რაოდენობრივი მაჩვენებელი მსგავსი პარამეტრებით ასახავდა დაბინძურების ხარისხს, ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემებიდან შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ ფაგების რიცხვი სასმელად ვარგის 100 მლ წყალში არ უნდა აღემატებოდეს 120-ს.

დასკვნები:

- *E. coli* ATCC 13706 შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას წყალში კოლი-სპეციფიკური ფაგების რიცხვის დასადგენად.
- ვინიდან *E. coli* ფეკალური დაბინძურების მაჩვენებელია, ხოლო ფაგები მისი პარაზიტები, მათი არსებობა ნიმუშში ასევე ადასტურებს ასეთი დაბინძურების არსებობას.
- კოლი-სპეციფიკური ფაგების აღრიცხვა შესაძლებელია გამოყენებულ იქნეს როგორც ალერნატიული მეთოდი ან ტრადიციულ ბაქტერიოლოგიურ მეთოდებთან ერთად დამატებითი ინფორმაციის მისაღებად.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. სსტ ისო 9308-1: 2014/2014 საქართველოს სტანდარტი. ,,წყლის ხარისხი - ნაწლავური ჩხირის კოლიფორმ ბაქტერიების ჩამონათვალი - ნაწილი 1: მემბრაბული ფილტრაციის მეთოდი დაბალი ბაქტერიული ფლორის ფონის წყლისათვის“;

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ МУ 2.1.4.1057-01;

3. APHA, AWWA & WPCF. In: Standard Methods for the exa-mination of water and wastewaters; 18th Ed., American PublicHeath Association. Washington, 1992, p. 9-47 and 9-109;

4. Borrego J, Moriñigo M, De Vicente A, Cornax R, Romero P. Coliphages as indicators of faecal pollution in water. Its relationship with indicators and pathogenic micro-organisms. Water Res 1987; 21: 1473-80;

5. Debartolomeis J, Cabelli VJ. Evaluation of an Escherichiacoli host strain for enumeration of F male-specific bacte-riophages. Appl Environ Microbiol 1991; 57: 1301-6;

6. Fattouh FA, Al-Kahtani MT. The efficiency of removal of total coliforms, fecal coliforms and coliphages in a wastewater treatment plant in Riyadh, Pakistan. J Biol Sci2002; 5: 466-70;

7. Grabow WO, Vrey A, Uys M, De Villiers JC. Evaluation of the application of bacteriophages as indicators of water quality. WRC Report № 411/1/98. Water Research Commis-sion, Pretoria, 5pp;

8. Havelaar AH, van Olphen M, Drost Y. F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for entericviruses in fresh water. Appl Environ Microbiol 1993; 59:2956-62;

9. Hot D, Legeay O, Jacques J, Gantzer C, Caudrelier Y, Guyard K, et al. Detection of somatic phages, infectious enteroviruses and enterovirus genomes as indicators of human enteric viral pollution in surface water. Water Res 2003; 37: 4703-10;

10.Kennedy,J.E.,Jr.,G.Bitton,andJ.L.Oblinger.1985.Comparisonofselectivemediaforassayofcoliphagesinsewageeffluentandlakewater.Appl.Environ.Microbiol.49:33-36;

11.Kott,Y.1966.EstimationoflownumbersofEscherichiacolibacteriophagebyuseofthemostprobablenumbermethod.Appl.Microbiol.14:141-144;

12. Mix,T.W.1987.Mechanismofadsorptionandelutionofvirusestoandfromsurfaces,p.127-139.InG.Berg(ed.),MethodsforrecoveringvirusesfromtheenvironmentCRCPress,Inc.,BocaRaton,Fla;

13. Paz y Miño M, Barzola C, Lazcano C, Ponce M, León J.Colifagos como indicadores de contaminación fecal y deremoción bacteriana en la potabilización de agua. Rev Pe-ruana de Biol 2003; 10: 133-44;

14.Puck,T.T.,A.Garen,andJ.Cline.1951.Mechanismofvirusattachmenttohostcells:roleofionsinaprimaryreaction.J.Exp.Med.93:65-88;

15. Sinton LW, May CH, Lynch PA, Davies-Colley R. Sunlight inactivation of faecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. Appl Environ Microbiol 2002; 68: 1122-31;

16.Shields,P.A.,andS.R.Farrah.1983.Influenceofsaltsonelectrostaticinteractionsbetweenpoliovirusandmembranefilters.Appl.Environ.Microbiol.45:526-531;

17. Skraber S, Gassilloud B, Gantzer C. Comparison of coliforms and coliphages as tools for assessment of viral contamination in river water. Appl Environ Microbiol 2004;70: 3644-9;

18. Steel RGD, Torrie JH. Bioestadística: Principios y Procedi-mientos. Mc Graw-Hill México, 1988, 622 pp;

19. Vaughn,J.M.,andT.G.Metcalf.1974.Coliphagesasindica-torsofentericvirusesinshellfishandshellfishraisingestuarinewaters.WaterRes.8:613-616;

20. USEPA. Method 1602: male specific (F+) and somatic coliphage in water by single agar layer (SAL) procedure 2001; EPA 821-R-01-029. Washington D. C. 20460.