

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **046133**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2024.02.09**

(21) Номер заявки  
**202190207**

(22) Дата подачи заявки  
**2018.07.12**

(51) Int. Cl. **A61K 35/76** (2015.01)  
**C12N 7/00** (2006.01)  
**A61P 31/04** (2006.01)

---

(54) **АНТИМИКРОБНАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

---

(31) **AP 2018 14773**

(32) **2018.05.02**

(33) **GE**

(43) **2021.10.06**

(86) **PCT/GE2018/000003**

(87) **WO 2019/211635 2019.11.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**АО "БИОХИМФАРМ" (GE)**

(72) Изобретатель:  
**Голиджашвили Александр,  
Голиджашвили Рати, Дзулиашвили  
Мариам, Папукашвили Ирина (GE)**

(74) Представитель:  
**Пантюшина Е.Н. (RU)**

(56) CISEK AGATA ANNA ET AL.:  
"Phage Therapy in Bacterial Infections Treatment:  
One Hundred Years After the Discovery of  
Bacteriophages", CURRENT MICROBIOLOGY,  
SPRINGER, BOSTON, vol. 74, no. 2, 28 November  
2016 (2016-11-28), pages 277-283, XP036136594,  
ISSN: 0343-8651, DOI: 10.1007/S00284-016-1166-  
X [retrieved on 2016-11-28] page 280, column 2,  
paragraph 3 - page 281, column 1, paragraph 1  
US-A1-2013336932  
RU-C1-2412243  
WO-A1-2009075884  
EP-A1-2781220  
KR-A-20130021677

(57) Антимикробная композиция содержит штаммы бактериофагов, чувствительные к *Staphylococcus aureus* - DSM 32631, DSM 32629, DSM 32630, штаммы бактериофагов, чувствительные к *Streptococcus pyogenes* - DSM 32634, DSM 32635, штаммы бактериофагов, чувствительные к *Escherichia coli* - DSM 32612, DSM 32611, DSM 32610, штаммы бактериофагов, чувствительные к *Proteus vulgaris* - DSM 32613, DSM 32614, DSM 32615, штаммы бактериофагов, чувствительные к *Pseudomonas aeruginosa* - DSM 32616, DSM 32618, DSM 32617 и не обязательно фармацевтически принимаемую добавку. При этом все вышеупомянутые бактериофаги депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

**B1**

**046133**

**046133**  
**B1**

### Сфера изобретения

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, биотехнологии, медицине, ветеринарии, охране окружающей среды и касается антимикробной композиции, созданным на ее основании препаратам, входящим в состав композиции штаммам бактериофагов и применению указанной композиции.

### Уровень техники

Лечение и превенция инфекционных заболеваний бактериальной этиологии является глобальной проблемой современной медицины.

Инфекции бактериального генеза актуальны не только с точки зрения общественного здравоохранения, они представляют значительную и увеличивающуюся проблему для ветеринарии, биобезопасности окружающей среды и экономики страны. Основываясь на данные Всемирной организации здравоохранения (WHO), Европейского органа безопасности пищевых продуктов (EFSA) и Европейского центра превенции и контроля заболеваний (ECDC), с каждым годом увеличиваются риски общественного здравоохранения от бактериальных антропогенных инфекций, например, в случае инфицирования животных и птиц, в частности, от сальмонеллеза, эшерихиоза, шигеллеза, стафилококков, стрептококков, псевдомонадными инфекциями. Зараженное бактериальной инфекцией животное, птица, для человека может стать источником инфекции, а загрязненные микроорганизмами (сальмонеллы, шигеллы, энтеропатогенная кишечная палочка, протеусы, энтеротоксигенный штамм стафилококка и др.) продукты животного, птицы, такие как мясо, яйцо, могут обусловить развитие токсикоинфекций и интоксикаций, а также инфекционных заболеваний. В свою очередь, при вторичном обсеменении мяса животного, птицы и продуктов из них, источниками загрязнения являются объекты окружающей среды (почва, вода, транспорт и т.д.), а также люди заболевшие и бактерионосители.

По исчислению экспертов органа безопасности пищевых продуктов Европы (EFSA) экономический ущерб, вызванный бактериальными, антропогенными инфекциями в Европе может составить более 3 миллиардов Евро в год.

Основываясь на данные экспертов WHO и органа безопасности пищевых продуктов Европы (EFSA), непрекращающееся увеличение антропогенных инфекций бактериальной этиологии во многих странах мира, увеличение численности бактериальных агентов (их сероваров), выявленных в людях, птицах, животных, значительная контаминация пищевых продуктов, объектов окружающей среды микробными патогенами, причиненный ими экономический ущерб, делает эти инфекции не только проблемой практической медицины, но и экологической, ветеринарной и социальной проблемой.

По данным WHO, инфекционные заболевания бактериального генеза отличаются сложностью их течения и ликвидации. Одной из причин таких сложностей является большое количество патогенов (их серотипов), вызывающих инфекцию. Особое внимание необходимо обратить на увеличивающуюся антибиотикорезистентность бактериальных агентов, вызывающих инфекцию и всеобщее распространение полирезистентных к антибиотикам штаммов. Для медиков большую сложность представляет также то, что среди людей, животных, птиц часто имеет место бактерионосительство, например, случаи бактерионосительства сальмонеллы в птицах достигает 50%.

В целом, в этиологии гнойно-воспалительных и кишечных бактериальных инфекций ведущая роль принадлежит антибиотикорезистентным микроорганизмам. На протяжении многих лет широкомасштабное использование антибиотиков без клинической необходимости и строгого контроля обусловило появление антибиотикорезистентных бактериальных штаммов и их всеобщее распространение, что является логичным результатом эволюционного процесса развития микробов. По заявлению всемирной организации здравоохранения по причине иррационального применения антибиотиков мы можем оказаться такими же бессильными перед инфекциями, какими мы были до изобретения пеницилина. С учетом мультирезистентности бактериальных агентов к антибиотикам, противопоказаний и осложнений антибиотиков (аллергические реакции, токсические, иммуносупрессорные, эмбриотоксические, тератогенные влияния, нарушения нормальной микрофлоры кишечника, дисбиотические изменения и др.) в медицинской практике и сегодня является актуальным вопросом лечения и превенции бактериальных инфекций, требует новых подходов, разработку оптимальных методов лечения.

В процессе лечения и превенции гнойно-воспалительных и кишечных инфекций (в людях, животных, птицах, санации окружающей среды) самыми физиологическими препаратами считаются строго специфические, патогенные и имеющие способность целенаправленной элиминации условно-патогенных организмов, безвредные, безопасные, эффективные биопрепараты -бактериофаги, как одно из альтернативных средств антибиотиков.

Бактериофаги, или фаги представляют собой бактериальные вирусы, которые вызывают специфический лизис микробов, вызывающих бактериальные инфекции - выборочно уничтожают бактериальных клеток. Бактериофаги адсорбируются на мембране клетки гомологической бактерии, нарушают их целостность, проникают внутрь клетки, размножаются и вызывают их лизис, с освобождением новых популяций потомства фагов. (Адамс М. (1961) Бактериофаги. "Изд. Иностранной литературы", Москва; Д'Эрелл Ф.Г. (1935) Бактериофаг и феномен выздоровления. Тбилиси Гос. Университет; Крылов В.Н. (2001) Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага: надежды, перспективы, проблемы безопасно-

сти, организация. Генетика, т.37, № 7, с. 869-887; Покровский В.Н., Поздеев О.К., 1998, Медицинская микробиология, "Геотар", Москва; Abedon S.T. et al., (2001) Bacteriophage latent-period evolution as a response to resource availability. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, N9 pp.4233-4241). Потомство вновь появившегося фага продолжает инфицирование новых микробных клеток до ликвидации инфекции - именно этим процессом обусловлен успех лечения и профилактики лечебными фагами. На сегодняшний день изучены до 4000 специфических изолятов бактериофага в отношении до 100 бактериальных род (Ackerman H.W. and Bertiaume-Lauren., *Atlas of viruses diagrams*, CRC Press, Boca Ration, 1995, New York, London, Tokyo).

Фаготерапия возникла сразу при открытии бактериофагов (1917 Ф.Г. Д'Эрелл). Уже в 20-ые годы двадцатого века Д'Эреллем были получены поликомпонентный интест монокомпонентной дизентерии и препараты фиобактериофагов для лечения и профилактики интестинальных и гнойно-хирургических инфекций. В 1923 году совместными усилиями Д'Эрелля и Г. Элиава был создан институт бактериофагии, микробиологии и вирусологии. В Грузии было выделено и изучено множество фагов для борьбы против бактериальных патогенов. Аналогичные работы успешно проводились в России, во Франции и Польше. В 40-ые годы двадцатого века на Западе с наступлением эры антибиотиков фаготерапия была забыта, однако с восьмидесятых годов XX века с увеличением числа опасных для жизни антибиотикорезистентных бактериальных инфекций, их распространением, также возможностью возникновения их новых форм по новому была освещена перспектива использования бактериофагов, как альтернативных антибиотикам средств для лечения и профилактики бактериальных инспекций. (Wei H., *Bacteriophages, revitalized after 100 years in the shadow of antibiotics*. *Virologica Sinica*, 2015, 30(1): 1-2. doi: 10.1007/s12250-014-3562-y; Wittebole X, De Roock S, Opal SM., *A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens*, *Virulence*, 2014, 1;5(1):226-35. doi: 10.4161/viru.25991). На сегодняшний день в мире настоящий бум в этом направлении, создаются фаготерапевтические компании, проводится активное рекламирование бактериофагов. Многолетними научно-клиническими исследованиями фагов был выявлен ряд значительных факторов, определяющих их преимущество по сравнению с антибиотиками и другими антибактериальными препаратами химической природы. Вот эти преимущества.

1. Бактериофаги являются естественными антагонистами антибиотиков; фаги проявляют высокий терапевтический потенциал (высокую лизисную активность -80-90%) в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.
2. Фаги обладают способностью самореплицирования, лизиса антибиотикорезистентных бактерий, быстрой репликации, адаптации и ограничения развития фагорезистентных бактерий.
3. Размножение бактериофагов происходит только при наличии чувствительных к нему бактерий, после лизиса последней микробной клетки, он полностью выходит из организма.
4. Проницаемость фагов в жидкости организма, в различные ткани и органы крайне высока (после фагирования 1-1,5 ч в кровь, в первые же часы в очаг инфекции). Изучением фармакокинетики и фармакодинамики фага в организме подтверждается, что введенные после фагирования в организм любым путем (пероральный, местный прием, введение в полость) фаги быстро (1-1,5 ч) впиваются в кровь и лимфу, после фагирования через кровь в первые же часы попадает в очаг инфекции, размножается на гомологическом, фагосенситивном микробном патогене и вызывает его лизис, с освобождением новых популяций потомства фагов. Фаг из организма выделяется в основном через почки проводя санацию мочевых путей и частично через желудочно-кишечный тракт.
5. Препараты фага безвредны, не вызывают побочные явления и осложнения, строго специфичны, не вызывают дисбиотические изменения, используются для их коррекции, не имеют цитотоксические действия, не влияют на метаболизм организма.
6. Бактериофаг стимулирует факторы специфического и неспецифического иммунитета организма.
7. Рациональная комбинация терапевтических фагов с другими антибактериальными препаратами несмотря на их класс всегда взаимнопотенциального типа. Совместимость с другими лекарственными средствами, включая антибиотики, полная. Применение фагов с антибиотиками повышает эффективность последних.
8. Отсутствие корреляции между фагосенсильностью и антибиотикорезистентностью.
9. Возможность эффективного применения фаговых препаратов для профилактики.
10. По сравнению с антибиотиками сравнительно низкая себестоимость фаговых препаратов и короткие сроки их приготовления.
11. Производство фаговых препаратов экологически чистый процесс.

Таким образом, для практической медицины приоритетным является использование альтернативных антибиотикам терапевтических бактериофаговых препаратов для превенции и лечения различных инфекций бактериальной этиологии. На протяжении многих лет рекомендации по использованию бактериофагов для лечения и превенции бактериальных инфекций основываются на анализе клинико-научных исследований медиков, что однозначно подтверждает высокую эффективность фаготерапии и фагопрофилактики, без противопоказаний и осложнений.

Многочисленными клиническими исследованиями было установлено, что фаговые препараты, при-

меняемые на начальной стадии заболевания в случае положительной фагосенсибельности бактериального патогена улучшают состояние пациента на 64% спустя 24 ч и на 93-95% спустя 48 ч.

Необходимо обратить внимание на то, что замена антибиотиков фагами, при лечении различных инфекционных заболеваний в популяциях бактерий (природных и клинических) постепенно вызывает образование антибиотикочувствительных клеток. Описаны клинические случаи, когда после лечения пациентов фагами произошла замена антибиотикорезистентных штаммов антибиотикочувствительными штаммами (Жрылов В.Н. Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага: надежды, перспективы, проблемы безопасности, организация. Генетика, 2001, т.37, № 7, с. 869-887).

Необходимо отметить, что при инфекциях бактериального генезиса назначение терапевтических препаратов бактериофагов рекомендовано следующим образом и в следующих случаях:

- в виде монотерапии на начальной, ранней стадии инфекции;
- в комбинации с другими антибактериальными препаратами (в том числе с антибиотиками) на острой стадии заболевания;
- в комбинации с патогенетической терапией, во время проведения второго курса этиотропной терапии, после неэффективности первого курса терапии (антибиотики и химиопрепараты);
- в случае повторного выделения бактерий (бактерионосительство) в виде монотерапии или в комбинации с иммунопротекторами;
- при лечении дисбактериоза, когда в кишечной флоре происходит увеличение золотого стафилококка, гемолитической кишечной палочки, также интенсивное размножение условно патогенных бактерий;
- с целью профилактики кишечных инфекций бактериальной этиологии (дизентерия, сальмонеллез, брюшной тиф, паратиф (А и В));
- в случае неэффективности действия антибиотиков (антибиотикорезистентность) и хронических рецидивирующих инфекций;
- при наличии противопоказаний к применению антибиотиков (антибиотик-ассоциированная диарея, заболевания печени, почек и других органов);
- аллергия к антибактериальным лекарственным средствам химической природы;
- беременные, период лактации, новорожденные и младенцы (вследствие отсутствия противопоказаний, побочных явлений, общетоксического, иммуносупрессорного, эмбриотоксического и тератогенного действия).

Высокий терапевтический потенциал фаговых препаратов, их многовидовой поливалентный состав, строгая специфичность бактериофагов, полная безвредность, для практической медицины делают актуальным применение терапевтических бактериофаговых препаратов, как одних из альтернативных средств антибиотиков для профилактики и лечения инфекций бактериальной этиологии (Джапаридзе, Применение бактериофага при свежееинфицированных повреждениях мягких тканей, Бактериофагия, 1955, т.2. с. 407-409; Ешиев А.М. Применение стафилококкового бактериофага жидкого (фагестаф) при комплексном лечении флегмон челюстно-лицевой области и шей, Медицина, Кыргызстан, 2009, №6, с. 23-25; Церетели Е.В. и другие. Изучение лечебно-профилактической эффективности салмонелозных фагов, изготовленных различными способами. Бактериофаги. Теоретические и практические вопросы, 1985; Цулукидзе А. П. Материалы к использованию бактериофага при хирургической инфекции. Бактериофагия, 1957, Тбилиси, с. 363-372; Appelmans R., Le bacteriophage dans l'organisme, Comp. Rend. Soc. de Biol., 1921, Paris, 85, p.722-724; Brüssow H., Phage therapy: the Escherichia coli experience, 10.1099/mic.0.27849-0 Microbiology, 2005, vol.151, N7, p.2133-2140; Carl R., Merrill C., Dean Scholl and Sankar L. et al., The prospect for bacteriophage therapy in Western medicine. Proc. Nat. Acad. Sci., 2003, USA, v.2; Carlton R.M., Phage therapy: Past history and future prospects. J. Arch. Immunol. Ther. Exper., 1999, 47, p.267-274; Gorski A., Dabrowska K., Switala-Jelen K. et al., New insights into the possible role of bacteriophages in host defence and disease. Med. Immunol., 2003, 2, 2; Gorski A., Hirszfeld L., Phage therapy - advantages over antibiotics? The Lancet, 2000, 356, 1418; Gorski A., Kniotek M., Perkowska-Ptasinska A et al., Bacteriophages and transplantation tolerance, Transplant. and Proc, 2006, 38 (1): 331-333; Gorski A., Weber-Dabrowska B., The potential role of endogenous bacteriophage in controlling invading pathogens., Cell. Mol. Life, 2005, Sci.62, 511; Kutter E, Abedon ST., et al., Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections, Curr Pharm Biotechnol, 2010 Jan; 11(1):69-86; Miedzybrodski R., Fortuna W., Weber-Dabrowska B., Gorski A., Bacterial viruses against viruses pathogenic for man. Virus Res., 2005, 110, 1; Rhoads DD, Wolcott RD, Kuskowski MA, Wolcott BM, Ward LS, Sulakvelidze A, Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial., J. Wound Care., 2009 Jun, 18(6):237-8, 240-3; Sulakvelidze A., Alavidze Z., Vorriss JG., Bacteriophage therapy (minireview), Antimicrob Agents Chemother., 2001, 45(3): 649-659; Weber-Dabrowska B., Mulczyk M., Gorski A., Bacteriophage therapy of bacterial infections: an update of our Institute experience., J. Arch. Immun. Exptl., 2000, 48, 547; Yan J., Fan X., Xie J., Emerging biomedicines based on bacteriophages, Crit Rev Eukaryot Gene Expr., 2013, 23(4): 299-308; Zhang J., Hong Y. et al., Physiological and Molecular Characterization of Salmonella Bacteriophages Previously Used in Phage Therapy. J. Food Prot., 2015, 78(12):2143-9, doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-350).

Лечебно-профилактические препараты бактериофагов могут быть монокомпонентными (моновалентными или поливалентными) или поликомпонентными (комбинированными поливалентными).

Монокомпонентные препараты состоят из гомологических, действительно вирулентных одного или нескольких бактериофагов бактерий одного вида (серотип, серовариант). Примеры монокомпонентных препаратов: стафилококковый бактериофаг (фагестаф), фаг пиоцеанеуса (фагеп), фаг сальмонеллы (фагесал, поливалентный), фаг дизентерии (фагедиз), фаги клебсиеллы, холеры, сerratии и др. (Burbutashvili T., Golijashvili A., Dzuliashvili M., Chkhartishvili S., Bondirev I., Saralidze D., Japarashvili N., Investigation of some biological properties of Enterococcus strains identified in Tbilisi in 2003-2004, Proceedings of Georgian Academy of Sciences, Biological series A, 2005, volume 31, N1, pp.13 -21; Chanishvili Z., Chanishvili T., Cholokashvili N., Dzuliashvili M., Gachechiladze K. Proteus Phage-029 and P113: A Comparative Study of Host Range, Antigenic Determinations and Structural Variations, August 22 2001, The Evergreen St. College, 14th International Phage biology Meeting; Dzuliashvili M., Gabitashvili K. et al., Study of therapeutic potential of the experimental Pseudomonas Bacteriophage Preparation, Georgian Medical News, 2007, 6(147), ISSN-1512-0112, Tbilisi, Georgia; Dzuliashvili M., Golijashvili A., et al. Isolation, taxonomy and comparative characterization of bacteriophages active to conditionally - pathogenic Pseudomonas aeruginosa strains, Proceedings of Georgian Academy of Sciences, Biological series, 2004, volume 25, N6, pp. 885-893; Dzuliashvili M., Golijashvili A., et al., Allocation, systematics and comparative characteristics of bacteriophages, active to the conditionally-pathogenic microorganisms of Pseudomonas aeruginosa, Proceedings of Georgian Academy of Sciences, Biological series A, 2004, volume 30, 6, pp.885-893; Dzuliashvili M., Golijashvili A. et al., Comparative characteristics of potentially-therapeutic bacteriophages, active to opportunistic pathogens of P.aeruginosa by virulence test, International seminar - Perspective of usage of bacteriophage preparations for prevention and treatment of infections caused by pathogenic and conditioned pathogenic microorganisms, Materials, 2005.10-11.11, pp.32, 82; Dzuliashvili M., Kutter E., Gabitashvili K., Gachechiladze K., Construction and Characterization Therapeutic Bacteriophages with Attack Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from USA Patients with Cystic Fibrosis 15th Evergreen International Phage Biology Meeting, 2003, poster 31, Olympia, WA, USA; Dzuliashvili M., et al., Construction and Characterization Therapeutic Bacteriophages with Attack Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from USA Patients with Cystic Fibrosis, 15th Evergreen International Phage Biology Meeting, 2003 Aug., Olympia, WA, USA, Poster 31; Dzuliashvili M. et al., Selection and Development of therapeutic phage cocktails for treatment of Ps. aeruginosa infections, International Seminar - Perspective of usage of bacteriophage preparations for prevention and treatment of infections caused by pathogenic and conditioned pathogenic microorganisms, 2005.10-11.11, Poster 10, Abstract book, p. 103; Gabitashvili K., Marina Dzuliashvili, Tamila Meskhi, Tina Kvelashvili, Ketevan Gachechiladze, Elizabeth Kutter, Selection and Construction of Experimental Races of Specific Bacteriophages Active Against Pseudomonas aeruginosa Isolated in USA from Various Infection Pathologies, 16th Evergreen International Phage Biology Meeting, Aug 7-12th 2005, poster T-51, Olympia, WA, USA; Golijashvili A., Dzuliashvili M., Gachechiladze K., Isolation and characterization of therapeutic phages specific for Serratiamarcescens, Proceedings of Georgian Academy of Sciences, Biological series, 1999, volume 25, 1, pp.14-26; Golijashvili A., Dzuliashvili M., Gachechiladze K., Bondirev I., Study of Serratia phages with some of virulence tests, Proceedings of Georgian Academy of Sciences, Biological series A, 2005, volume 31, 2, pp.261-268; Golijashvili A., Dzuliashvili M., Gachechiladze K., et al., Some aspects of selection of treatment - prophylactic Serratiamarcescens bacteriophages, Proceedings of Georgian Academy of Sciences, 2004, Biological series A, volume 30, N6, pp.787-797; Golijashvili A., Nikogosova N., Gachechiladze K., Production of new treatment - prophylactic bacteriophage preparations active to Serratiamarcescens and Enterobacteraerogenes, Topical questions in Microbiology and Virology, Tbilisi, Collection of works, '1996, volume IX, pp.68-71; Golijashvili A., Dzuliashvili M., et al., Production and identification of potentially therapeutic bacteriophage of Serratiamarcescens, International seminar - Perspectives for the use of bacteriophage preparations for the prevention and treatment of infections caused by pathogenic and opportunistic pathogenic microorganisms, Materials, 2005, p.41, 9210-11, November, 2005, Tbilisi; Golijashvili A., et al., 15th Evergreen International Phage Biology Meeting., 2003 Aug. 2-10, Olympia, WA, USA, Poster 10, Interaction of serologic specificity and therapeutic potential of bacteriophages; Golijashvili A. et al., 2nd International ASM-FEMS Conference on Enterococci, Bacteriophages as alternative antibacterial remedy against enterococcal infections, 2005, American Society for Microbiology, B 116, p. 95; Golijashvili A. et al., International Seminar, Perspectives of usage of bacteriophages preparations for prevention and treatment of infections caused by pathogenic and conditional pathogenic microorganisms, ISTC, 10-11 XI, 2005, Tbilisi, Georgia - Comparative characteristics of the potentially therapeutic Bacteriophages active against opportunistic microorganisms Ps. aeruginosa by virulence tests, pp.82-83; Golijashvili A. et al., International Seminar, Perspectives of usage of bacteriophages preparations for prevention and treatment of infections caused by pathogenic and conditional pathogenic microorganisms, ISTC, 10-11 XI, 2005, Tbilisi, Georgia - Applying perspective of bacteriophages for diagnostics, treatment and prevention of the infections induced by the genera Klebsiella and Enterobacter, p.90; Golijashvili A et al., International Seminar, Perspectives of usage of bacteriophages preparations for prevention and treatment of infections caused by pathogenic and conditional pathogenic microorganisms, ISTC, 10-11 XI, 2005, Tbilisi, Georgia - Development of Serratia marcescens Bacteriophages and definition of their therapeutic potential, p.92; Golijashvili A. et al., 5-th International Conference, Bioresearches and viruses, 2007, Kiev: Diarrheal agents and antibacterial preparations; Bacteriophages as a remedy for treatment of diarrhea, Problems of diarrhea).

Поликомпонентные препараты состоят из гомологических, действительно вирулентных множест-

венных фагов различных (двух или более) видов бактерий (серотип, серовариант). Из технического уровня нам известны поликомпонентные препараты в достаточном количестве, часть которых описана в следующих источниках: Orynbasarova K.K., Shakim G.A., et al., Application Pyobacteriophage in complex treatment of children with pneumonia, Clinical observation, Vestnik of NSU, 2012, 10(4): 122-125; Orynbasarova K. K., Shakim G. A., Comparative studies of clinical effectiveness of different antibacterial remedies for treatment of children with pneumonia, International congress, Health for everyone: Prophylaxis, Treatment, Rehabilitation, 2012, Almaty, pp. 272-273.

Несмотря на то, что на сегодняшний день существует достаточное количество препаратов, содержащих бактериофаги, актуальным остается создание такого препарата, который будет высокоэффективным при различных микробных инфекционных заболеваниях. Указанному вопросу еще большую актуальность придает тот факт, что увеличено число таких заболеваний, которые вызваны ассоциированием мультирезистентных микробов к различного вида антибиотикам. Соответственно, для лечения таких заболеваний необходимы поликомпонентные препараты, содержащие действительно вирулентные бактериофаги, которые в единстве могут полностью покрыть весь спектр бактерий, вызывающих вирусные заболевания.

### Суть изобретения

Одним аспектом осуществления изобретения является антимикробная композиция, которая содержит:

- а) чувствительные к *Staphylococcus aureus* штаммы бактериофагов: DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- б) чувствительные к *Streptococcus pyogenes* штаммы бактериофагов: DSM 32634 и DSM 32635, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- в) чувствительные к *Escherichia coli* штаммы бактериофагов: DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- г) чувствительные к *Proteus vulgaris* штаммы бактериофагов: DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- д) чувствительные к *Pseudomonas aeruginosa* штаммы бактериофагов: DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ) и не обязательно фармацевтически принимаемую добавку.

Указанная выше композиция еще по одному аспекту осуществления изобретения может иметь форму, которая избрана из следующей группы: жидкая форма, спрей, таблетка, порошок, капсула, мазь, супозитор.

Указанную выше композицию еще по одному аспекту осуществления изобретения применяют для лечения и/или профилактики гнойно-воспалительных инфекций.

Указанную выше композицию еще по одному аспекту осуществления изобретения применяют для лечения и/или профилактики гнойно-воспалительных инфекций у людей.

Указанную выше композицию еще по одному аспекту осуществления изобретения применяют для лечения и/или профилактики гнойно-воспалительных инфекций среди животных и птиц.

Указанную выше композицию еще по одному аспекту осуществления изобретения применяют для лечения у людей бактериальных инфекций дыхательных путей, хирургических инфекций, урогенитальных заболеваний, заболеваний системы пищеварения, гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваний у новорожденных и детей грудного возраста.

Еще по одному аспекту осуществления изобретения бактериальные инфекции вышеуказанных дыхательных путей отобраны из следующей группы: риниты, отиты, ангина, ларингиты, трахеиты, бронхиты, пневмония и плеврит.

Еще по одному аспекту осуществления изобретения вышеуказанные хирургические инфекции отобраны из следующей группы: гнойные раны, ожоги, абсцесс, флегмона, фурункул, карбункул, гидраденит, панарициум, парапроктит, мастит, бурсит и остеомиелит.

Еще по одному аспекту осуществления изобретения вышеуказанные урогенитальные заболевания отобраны из следующей группы: уретрит, цистит, бактериурия, пиелонефрит, колпит, вульвит, бартолинит, эндоцервицит, эндометрит и сальпингоофорит.

Еще по одному аспекту осуществления изобретения вышеуказанные заболевания системы пищеварения отобраны из следующей группы: энтериты, гастроэнтериты, колиты, гастроэнтероколиты, пищевые токсикоинфекции, холециститы и дисбактериоз.

Еще по одному аспекту осуществления изобретения вышеуказанные гнойно-воспалительные и энтеральные заболевания у новорожденных и детей грудного возраста отобраны из следующей группы: омфалит, пиодермия, гастроэнтерит, гастроэнтероколит и дисбактериоз.

Еще по одному аспекту осуществления изобретения профилактика также предусматривает обработку агрикультур, аквакультур, пищевых продуктов, санацию окружающей среды.

Еще один аспект осуществления изобретения входящие в состав вышеуказанной композиции, имеющие противодействующую активность к *Staphylococcus aureus* штаммы изолированного бактериофага, отобраны из групп: DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630. Все указанные штаммы депонированы в

немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящие в состав вышеуказанной композиции, имеющие противодействующую активность к *Streptococcus pyogenes* штаммы изолированного бактериофага, отобранные из групп: DSM 32634 и DSM 32635. Все указанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящие в состав вышеуказанной композиции, имеющие противодействующую активность к *Escherichia coli* штаммы изолированного бактериофага, отобранные из групп: DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610. Все указанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящие в состав вышеуказанной композиции, имеющие противодействующую активность к

*Proteus vulgaris* штаммы изолированного бактериофага, отобранные из групп: DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615. Все указанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящие в состав вышеуказанной композиции, имеющие противодействующую активность к *Pseudomonas aeruginosa* штаммы изолированного бактериофага, отобранные из групп: DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617. Все указанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

#### Описание фигур

На фиг. 1 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32631.

На фиг. 2 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32629.

На фиг. 3 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32630.

На фиг. 4 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32634.

На фиг. 5 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32635.

На фиг. 6 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32612.

На фиг. 7 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32611.

На фиг. 8 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32610.

На фиг. 9 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32613.

На фиг. 10 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32614.

На фиг. 11 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32615.

На фиг. 12 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32616.

На фиг. 13 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32618.

На фиг. 14 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32617.

На фиг. 15 изображены профили полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP) DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630 при использовании ферментов EcoR I, EcoR V, Hind III и Spe I.

На фиг. 16 изображены профили RFLP DSM 32634 и DSM 32635 при использовании фермента Hind III.

На фиг. 17 изображены профили RFLP DSM 32634 и DSM 32635 при использовании фермента Afl II.

На фиг. 18 изображены профили RFLP DSM 32612, DSM 32610 и DSM 32611 при использовании ферментов EcoR V и Afl II.

На фиг. 19 изображены профили RFLP DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615 при использовании фермента Hind III.

На фиг. 20 изображены профили RFLP DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615 при использовании фермента Afl II.

На фиг. 21 изображен профиль RFLP DSM 32616 при использовании фермента Hind III.

На фиг. 22 изображены профили RFLP DSM 32618 и DSM 32617 при использовании ферментов EcoR V и Hind III.

#### Детальное описание изобретения

Антимикробная композиция и препараты на ее основе.

Одним из основных аспектов осуществления изобретения является антимикробная композиция, которая включает:

а) чувствительные к *Staphylococcus aureus* штаммы бактериофагов: DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

б) чувствительные к *Streptococcus pyogenes* штаммы бактериофагов: DSM 32634 и DSM 32635, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

в) чувствительные к *Escherichia coli* штаммы бактериофагов: DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

г) чувствительные к *Proteus vulgaris* штаммы бактериофагов: DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

д) чувствительные к *Pseudomonas aeruginosa* штаммы бактериофагов: DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ) и не

обязательно фармацевтически принимаемую добавку.

Согласно изобретению под бактериофагом, входящим в состав композиции понимается депонированный бактериофаг и производное от него потомство, генетический профиль которого по существу эквивалентен соответствующему депонированному бактериофагу.

По данным Всемирной организации здравоохранения бактерии *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, в виду их широкого распространения в природе, являются основными возбудителями локальных и системных гнойно-воспалительных процессов (24-80%).

В этиологии неонатальных, нозокомиальных инфекций *Staphylococcus aureus* является доминантным патогеном (61,5%). Он представляется основным возбудителем пневмоний (24%), сепсисов (24,6-28%), менингитов, кожных инфекций (39%), бактериальных синуситов (24-80%). За последние 20 лет в мире в мокроте пациентов с проблемным заболеванием кистозный фиброз - муковисцидоз в раннем возрасте, чаще всех (63-65%) выделяется *S. aureus*. Среди беременных при таких уро-генитальных патологиях, как пиелонефрит, цистит, уретрит, бактериурия, кольпит, эндоцервицит, эндометрит, сальпингооофрит, *Staphylococcus aureus* выделяется в 12,1-12,5%.

Стафилококковый энтероколит может быть начальным проявлением инфекции или развиваться на фоне вторичного сепсиса или другого проявления (пневмония, менингит, омфалит и др.). Заболевание чаще встречается среди детей в возрасте до 6 месяцев ослабленных, недоношенных, имеющих другие сопутствующие заболевания.

*Streptococcus pyogenes* вызывает тонзилит, фарингит, пневмонию, ревматизм, острый гломерулонефрит, инфекции кожи и мягких тканей (пиодермию, импетиго, целлюлит), стрептококковый синдром токсического шока, лимфангиты, септицемию. Стрептококковую этиологию имеет острое инфекционное заболевание скарлатина. В этиологии фарингитов самым частым бактериальным патогеном представляется гемолизный *Streptococcus pyogenes* группы А, вызывающий фарингиты среди детей (15% случаев) и взрослых (30% случаев), индуцированный *Streptococcus pyogenes*-ом фарингит часто осложняется пневмониями и гломерулонефритами. При тонзилите, т.е. бактериальной ангине, доминантным этиологическим агентом в 70-80%-ах случаев является гемолизный *Streptococcus pyogenes* группы А. При урогенитальных патологиях *Streptococcus pyogenes* в 15,6-21,2%-ах случаев представляется этиологическим агентом.

*Escherichia coli* вызывает энтериты, уретриты, циститы, пиелонефриты, холециститы, перитонит, септицемию, менингит у детей, раневую инфекцию и т.д. *E.coli* основной микроорганизм, вызывающий острую инфекцию кишечника. Эшерихиоз (синоним - колиинфекция кишечника) протекает с симптомами гастроэнтерита, гастроэнтероколита.

*E.coli*, вызывающий диарею, делится на 5 типов: энтеротоксигенные, энтероинвазивные, энтеропатогенные, энтерогеморрагические, энтеро-адгезивные. Энтеротоксигенный *E.coli* является основной причиной диареи среди путешественников, она также основной возбудитель гастроэнтеритов среди малолетних детей. Энтерогеморрагический *E.coli* вызывает геморрагический колит. Кроме диареи энтерогеморрагический *E.coli* возбуждает развитие геморрагически-уремического синдрома.

Энтерогеморрагические штаммы палочек кишечника отличаются высокой вирулентностью и патогенностью

При урогенитальных патологиях среди беременных этиологическим агентом чаще всего (68,8-80%) выступает *E.coli*.

*Proteus vulgaris* вызывает инфекции мочевыводящих путей, абсцессы, менингит, гастроэнтериты, инфицирует раны, ожоги, также вызывает в пациентах вторичные септические повреждения после хирургических вмешательств и ожогов.

*Pseudomonas aeruginosa* вызывает 15-20% внутрибольничных инфекций, 16-20% нозокомиальных пневмоний, 20-25% гнойно-хирургических инфекций. Одна треть инфекций моче-половых органов приходится на *P.aeruginosa*. *P.aeruginosa* вызывает кератиты, эндокардит, энтериты, конъюнктивиты, отиты, менингиты, бактериемию/септицемию, пара и ректальный абсцесс, остеомиелит, артрит. В целом при бактериемии-септицемии летальный исход составляет 35-75%. В мокроте пациентов с заболеванием кистозный фиброз (муковисцидоз) чаще всего (60%) выделяются мультирезистентные к антибиотикам мукоидные (вирулентные) штаммы *P.aeruginosa*, и 90% вызванных ими хронических инфекционных процессов заканчиваются летально.

Основываясь на указанные выше данные Всемирной организации здравоохранения (WHO) и Национального центра контроля заболеваний и общественного здравоохранения (NCDC) Грузии и с учетом того, что практически моноинфекция не существует, была разработана эффективная антимикробная композиция. Входящие в эту композицию действительно вирулентные бактериофаги обеспечивают лизис указанных выше основных возбудителей и, соответственно, высокоэффективны для лечения и профилактики заболеваний, вызванных микробными ассоциациями. Необходимо отметить, что различные виды бактериофага, входящих в состав композиции, не проявляют антагонизма друг к другу, что еще раз указывает на строгую специфичность бактериофага.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения титр фагов и концентратов следующий:

Вид фага	Титр фага	Титр концентрата
DSM 32631	$3 \times 10^{10}$	$3 \times 10^{11}$
DSM 32629	$1 \times 10^{10}$	$4 \times 10^{11}$
DSM 32630	$5 \times 10^{10}$	$2 \times 10^{11}$
DSM 32634	$4 \times 10^9$	$1 \times 10^{11}$
DSM 32635	$6 \times 10^9$	$4 \times 10^{11}$
DSM 32612	$1 \times 10^{10}$	$3 \times 10^{11}$
DSM 32611	$2 \times 10^9$	$1 \times 10^{11}$
DSM 32610	$4 \times 10^{10}$	$4 \times 10^{11}$
DSM 32613	$1 \times 10^9$	$4 \times 10^{10}$
DSM 32614	$6 \times 10^8$	$1 \times 10^{11}$
DSM 32615	$2 \times 10^9$	$1 \times 10^{11}$
DSM 32616	$4 \times 10^{10}$	$5 \times 10^{11}$
DSM 32618	$1 \times 10^{10}$	$1 \times 10^{11}$
DSM 32617	$2 \times 10^9$	$2 \times 10^{11}$

По изобретению композиция содержит бактериофагов и не обязательно носителей. Композиция может быть представлена в жидком виде или как лиофилизированный порошок. Препарат, изготовленный на основе композиции, может иметь форму инъекции, инфузии, спрея, таблетки, капсулы, мази, суппозиторную. В преимущественном случае препарат содержит фармацевтически приемлемый носитель.

Перед применением или для изготовления необходимой формы (например, инъекционный раствор, назальный спрей и т.д.) возможно ресуспендирование композиции в виде лиофилизованного порошка в инъекционной воде, буферном растворе, 5%-ом растворе глюкозы, глицерине, декстрани, полиэтиленгликоле, сорбите и в любом другом растворе, который обеспечит жизнеспособность фага и не будет токсичным для человека.

По общеизвестным в фармацевтике технологиям по изобретению, в виде порошка на основании композиции могут быть изготовлены саше, таблетки, капсулы. Указанные препараты могут содержать стабилизаторы, консерванты, дополнительные активные ингредиенты, например, антибиотики. Таблетка и капсула могут быть изготовлены по такой технологии, чтобы активный ингредиент освобождался бы в кишке.

Изготовленный на основании композиции препарат может иметь перорально приемлемую жидкую форму в виде суспензий, растворов, эмульсий и сиропов. Такие формы могут содержать суспендирующих агентов, эмульгаторов, консервантов, ароматизаторов, подсластителей и т.д.

На основании композиции может быть изготовлен препарат для местного действия. Виды таких препаратов: мази и суппозитории. Они содержат известные в фармацевтическом производстве основы, которые обеспечивают жизнеспособность фага и нетоксичны для человека. Бактериофаги, входящие в состав композиции.

В состав композиции входят изолированные бактериофаги. Культивация изолированного бактериофага происходит отдельно от окружающей среды и изолированно. Соответственно, каждый штамм изолированного бактериофага чист и практически не содержит примесей других бактериофагов.

Входящие в состав композиции депонированные бактериофаги специфичны к соответствующей целевой бактерии и обладают способностью его лизирования.

Понятие бактериофага, входящего по изобретению в состав композиции охватывает как депонированный бактериофаг, также произведенное от него потомство, генетический профиль которого по существу эквивалентен соответствующему депонированному бактериофагу и соответственно, полностью сохранена специфичность в отношении целевой бактерии. Указанное потомство может иметь определенные генетические вариации, рамки которых садятся в рамки стандарта "тесно связанных организмов", разработанного Tenover-ом (Tenover, et al. (1995) "Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis Criteria for Bacterial Strain Typing." J. Clin. Microbiol.33: 2233-2239). Необходимые для изготовления композиции бактериофаги получают методом культивирования, необходимая методика которого и материалы хорошо известны специалистам данной области техники. Более конкретно, производственный штамм целевых бактерий депонированных бактериофагов каждого штамма культивируют на питательной среде, после чего инокулируют соответствующие бактериофаги (специфические для указанных бактерий депонированные бактериофаги) по заранее определенной оптимальной множественностью посево-инфицирования. После инкубации и бактериального лизиса бактериофаги собирают, очищают и концентрируют, после чего получают необходимые для изготовления

композиции бактериофаги. Ступени очищения и концентрирования охватывают различные системы фильтрации и центрифугирования, хорошо известные в настоящей области техники (Adams, M. H. (1959). *Methods of study bacterial viruses. Bacteriophages*. London, Interscience Publishers, Ltd.: 443-519).

Определение желанной концентрации бактериофагов осуществляется путем титрации фагов. Если необходимо увеличение концентрации бактериофагов конкретного штамма, происходит концентрация путем фильтрации и центрифугирования, а если необходима меньшая концентрация, то происходит разбавление водой или буфером. Наконец, для изготовления композиции происходит смешивание друг с другом полученных таким образом потомств депонированных бактерий каждого штамма.

В состав композиции входят чувствительные к *Staphylococcus aureus* штаммы бактериофагов: DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения вышеуказанных фагов: pH - 7-7,4; температура - 30-37°C; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посевоинфицирования - 0,8; время культивирования - 15-18 ч.

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630. Также было изучено взаимоотношение указанных фагов с клетка-хозяином, в частности, был определен показатель адсорбции бактериофагов на клетку-хозяина в течение малого (5 мин.) времени и константа адсорбции - К.

Данные вышеуказанных исследований приведены в таблице 1 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О.

"Биохимфарм"), а на фиг. 1-3 показаны электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестриционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP были использованы рестриционные ферменты - EcoR I, EcoR V, Hind III, Spe I, Afl II. RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фиг. 15.

В состав композиции входят чувствительные к *Streptococcus pyogenes* штаммы бактериофагов: DSM 32634 и DSM 32635, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения вышеуказанных фагов: pH - 7-7,4; температура - 30-37°C; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посевоинфицирования - 0,3; время культивирования - 15-18 ч.

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32634 и DSM 32635. Также было изучено взаимоотношение указанных фагов с клетка-хозяином, в частности, был определен показатель адсорбции бактериофагов на клетку-хозяина в течение малого (5 мин.) времени и константа адсорбции - К.

Данные вышеуказанных исследований приведены в табл. 2 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. "Биохимфарм"), а на фиг. 4 и 5 показаны электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32634 и DSM 32635, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестриционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP были использованы рестриционные ферменты: Hind III и Afl II.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фиг. 16 и 17.

В состав композиции входит чувствительный к *Escherichia coli* штаммы бактериофагов DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения вышеуказанных фагов: pH - 7-7,4; температура - 30-37°C; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посевоинфицирования - 0,2; время культивирования - 15-18 ч.

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610. Также было изучено взаимоотношение указанного фага с клетка-хозяином, в частности, был определен показатель адсорбции бактериофага на клетку-хозяина в течение малого (5 мин.) времени и константа адсорбции - К.

Данные вышеуказанных исследований приведены в табл. 3 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. "Биохимфарм"), а на фиг. 6-8 показано электронно-микроскопическое изображение вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестриционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP были использованы рестриционные ферменты - EcoR V и Afl II.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фиг. 18.

В состав композиции входят чувствительные к *Proteus vulgaris* штаммы бактериофагов: DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения вышеуказанных фагов: pH - 7-7,4; температура - 30-37°C; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посевоинфицирования - 0,2; время культивирования - 15-18 ч.

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615. Также было изучено взаимоотношение указанных фагов с клетка-хозяином, в частности, был определен показатель адсорбции бактериофага на клетку-хозяина в течение малого (5 мин.) времени и константа адсорбции - К.

Данные вышеуказанных исследований приведены в табл. 4 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. "Биохимфарм"), а на фиг. 9-11 показано электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP были использованы рестрикционные ферменты - Hind III и Afl II.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фиг. 19 и 20.

В состав композиции входит чувствительный к *Pseudomonas aeruginosa* штаммы бактериофагов: DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения вышеуказанных фагов: pH - 7-7,4; температура - 30-37°C; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посевоинфицирования - 0,2; время культивирования - 15-18 ч.

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617. Также было изучено взаимоотношение указанных фагов с клетка-хозяином, в частности, был определен показатель адсорбции бактериофагов на клетку-хозяина в течение малого (5 мин.) времени и константа адсорбции - К.

Данные указанных исследований приведены в табл. 5 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. "Биохимфарм"), а на фиг. 12-14 показаны электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP были использованы рестрикционные ферменты: EcoR V и Hind III.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фигурах 21 и 22.

Также была изучена лизисная активность 14-х штаммов бактериофагов *in vitro*, входящих в состав композиции. В частности, была изучена лизисная активность бактериофагов в отношении 122 бактериальных штаммов из коллекции, имеющейся на базе А.О. "Биохимфарм" и в отношении 159 бактериальных штаммов международных коллекций и различных стран (Испания, Германия, Австралия, США).

Результаты лизисной активности бактериофагов в отношении бактериальных штаммов из коллекции, имеющейся на базе А.О. "Биохимфарм" показаны в таблице 6. Как видно из таблицы, *in vitro* эффективность - диапазон лизисного действия бактериофагов, входящих в состав композиции на гомологические бактерии следующий: *E.coli* (36 штаммов) - 80,6-94,4%; *Proteus* (7 штаммов) - 100%; *S.aureus* (36 штаммов) - 89,9-94,4%; *P.aeruginosa* (38 штаммов) - 76,3-94,7%; *S.pyogenes* (5 штаммов) - 100%. Анализ скрининга показал, что имеющиеся в составе композиции 14 бактериофага по диапазону лизисного действия перекроют друг друга, соответственно, *in vitro* эффективность - диапазон лизисного действия бактериофагов, входящих в состав композиции в отношении 122 бактериальных штаммов из коллекции, имеющейся на базе А.О. "Биохимфарм" составляет 100%.

Лизисная активность бактериофагов, входящих в состав композиции в отношении бактериальных штаммов международных коллекций и различных стран (Испания, Германия, Австралия, США) следующий: на штаммы *Staphylococcus aureus* - 95,2%; на штаммы *E.coli* - 75%; на штаммы *Proteus* - 100%; на штаммы *P.aeruginosa* - 75%; на штаммы *S.pyogenes* - 100%.

Использование композиции для лечения и профилактики.

Композиция используется для лечения и профилактики. Применение композиции в лечебных целях показано:

при бактериальных инфекциях дыхательных путей: рините, отите, ангине, ларингите, трахеите, бронхите, пневмонии, плеврите;

хирургических инфекциях: гнойных ранах, ожогах, абсцессах, флегмоне, фурункуле, карбункуле, гидрадените, панарициуме, парапроктите, мастите, бурсите и остеомиелите;

урогенитальных заболеваниях: уретрите, цистите, бактериурии, пиелонефрите, колпите, вульвите,

бартолините, эндоцервиците, эндометрите и сальпингоофорите;

при заболеваниях системы пищеварения - энтеральных инфекциях: энтеритах, гастроэнтеритах, колитах, гастроэнтероколитах, пищевых токсикоинфекциях, холециститах и дисбактериозе;

при гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваниях у новорожденных и детей грудного возраста: омфалите, пиодермии, гастроэнтерите, гастроэнтероколите и дисбактериозе.

В применении композиции в лечебных целях ее дозировка, продолжительность лечения, пути введения зависят от многих факторов, в том числе от возраста пациента, веса, тяжести заболевания. Выбор надлежащей схемы лечения композицией для конкретного пациента не представляет трудность для квалифицированного клинициста.

В профилактических целях композиция применяется:

для различных манипуляций полости рта и обработки послеоперационных (перидонтальные процедуры, экстракция зуба и др.) ран;

для обработки новых ран как в бытовых условиях, так и в лечебных заведениях;

при манипуляциях и операциях в хирургии, для профилактики гнойных осложнений;

с целью превенции гнойных осложнений острых респираторно-вирусных инфекций;

для профилактики бактериального загрязнения в лечебных заведениях и внутригоспитальных инфекций.

Кроме вышеуказанного, использование композиции возможно для фагодиагностики, фагоиндикации и фагопрофилактики. Также возможно использование композиции для оздоровления экологического положения, санации окружающей среды, агрикультурах, аквакультурах. С целью сокращения, устранения и превенции колонизации патогенных бактерий возможна обработка пищевых продуктов композицией, предложенной изобретением. Препараты, изготовленные на основе композиции, могут быть использованы на промышленных объектах, в домах престарелых, детских садах и др., для санации окружающей среды, с целью превенции бактериальной колонизации.

Композиция может быть использована в косметической продукции в качестве дополнений: кремах, лосьонах, гелях и др.

Была изучена лечебная эффективность *in vivo* композиции. Шестьдесят пациентов с диагнозом флегмоны челюстно-лицевой и шейной областей (в исследуемом материале - грамположительные коки у 92,1%-ов, в том числе *S.aureus* у 59,9%-ов) были разделены на две группы: исследуемую группу и контрольную группу. В исследуемой группе проводилось лечение предложенной композицией, а в контрольной группе проводилась только антибиотикотерапия (Цефазолин, Гентамицин, Линкомицин). Среди пациентов исследуемой группы отмечалось улучшение со второго дня, на 3-5 день - рассасывание отека тканей и воспалительной инфильтрации, на девятый день у пациентов раны были полностью заживлены. У пациентов контрольной группы, в которой положительная динамика началась только на 5-ый день, раны были полностью заживлены на 14-ый день.

Комбинированное применение предложенной изобретением композиции и антибиотиков (Цефазолин, Рокситромицин) в детях (40 пациентов в возрасте от 6-ти месяцев до 3 лет, диагноз пневмония) показало уменьшение клинико-рентгенологических проявлений заболевания, выздоровление и сокращение продолжительности нахождения в стационаре в среднем на 4 дня по сравнению с монотерапией антибиотиками.

Кроме этого было проведено сравнение эффективности композиции с эффективностью антибиотиков, секстафага (RU 2410084 (FEDERAL NOE GUP NPOB MED IMMUNOBIOLOGICHESKIM PREPARATAM MIKROGEN MIN ZDRAVOOKHRANENIJARF) 27.01.2011) и пиофага (RU 2036232 (UFIM NII VAKTSIN I SYVOROTOK) 27.05.1995). Эффективность бактериофагов, входящих в состав композиции при гнойно-воспалительных и кишечных инфекциях, вызванных антибиотикорезистентными штаммами составляет 75-100%, в частности, на штаммах *Staphylococcus aureus* - 95,2%, на штаммах *E.coli* - 75%, на штаммах *Proteus* - 100%, на штаммах *P.aeruginosa* - 75%, на штаммах *Streptococcus* - 100%. Вместе с тем, эффективность секстафага и пиофага составляет 43-93%, в частности на штаммы *Staphylococcus aureus* - 70-93%, на штаммы *E.coli* - 68-75%, на штаммы *Proteus* - 55-76%, на штаммы *P.aeruginosa* - 43-61,5%, на штаммы *Streptococcus* - 74,9-90%. Что касается антибиотикотерапии, ее эффективность не превышает 64% (Sulakvelidze A., Alavidze Z., Vorris J.G., Bacteriophage therapy (minireview), *Antimicrob Agents Chemother.*, 2001, 45(3): 649-659).

Таким образом, предложенная изобретением композиция представляет собой высокоэффективное средство для лечения и превенции заболеваний, вызванных различными микробами, особенно микробными ассоциациями.

Таблица 1

N	Наименование фага	Наименование клетка-хозяина	Морфология вириона	Морфология негативных колоний фага	Титр фага; Титр конц. (PFU/ml)	К адсорбции (мл/мин.) и % 5 мин.
1	DSM 32631	Staphylococcus aureus 53	Myoviridae; A1 капсид – 98 nm хвост – 257 nm (x 245 000)	Маленькие яркие колонии диаметром 1,5 мм	3×10 <sup>10</sup> 3×10 <sup>11</sup>	K <sub>5</sub> =3,8×10 <sup>-9</sup> 85%
2	DSM 32629	Staphylococcus aureus 14	Siphoviridae; B1 капсид – 80 nm хвост – 216 nm (x 250 000)	Маленькие яркие колонии диаметром 2 мм	1×10 <sup>10</sup> 4×10 <sup>11</sup>	K <sub>5</sub> =3,38×10 <sup>-9</sup> 81.6%
3	DSM 32630	Staphylococcus aureus 51	Myoviridae; A1 Икосаэдровой формы капсид – 87 nm комплексный хвост – 256,5 nm (x 230 000)	Маленькие яркие колонии диаметром 1 мм	5×10 <sup>10</sup> 2×10 <sup>11</sup>	K <sub>5</sub> =3,7×10 <sup>-9</sup> 84%

Таблица 2

N	Наименование фага	Наименование клетка-хозяина	Морфология вириона	Морфология негативных колоний фага	Титр фага; Титр конц. (PFU/ml)	К адсорбции (мл/мин.) и % 5 мин.
1	DSM 32634	Streptococcus 19615	Siphoviridae; B1 капсид – 100 nm длинный, несжимаемый, гибкий хвост – 168 nm	Среднего размера яркие колонии диаметром 3 мм	4×10 <sup>9</sup> 1×10 <sup>11</sup>	k <sub>5</sub> =8,4×10 <sup>-9</sup> 87,83%
2	DSM 32635	Streptococcus 21059	Siphoviridae; B1 капсид – 93 nm гибкий хвост - 128nm	Маленькие яркие колонии диаметром 2 мм	6×10 <sup>9</sup> 4×10 <sup>11</sup>	k <sub>5</sub> =7,0×10 <sup>-9</sup> 83.05%

Таблица 3

N	Наименование фага	Наименование клетка-хозяина	Морфология вириона	Морфология негативных колоний фага	Титр фага; Титр конц. (PFU/ml)	К адсорбции (мл/мин.) и % 5 мин.
1	DSM 32612	E.coli - O <sub>18ac</sub> B <sub>21</sub> H <sub>7</sub>	Myoviridae; A1 капсид – 64 nm хвост – 112 nm (x 250 000)	Среднего размера диаметром 3 мм прозрачные колонии	1×10 <sup>10</sup> 3×10 <sup>11</sup>	K <sub>5</sub> =4,43×10 <sup>-9</sup> 88.57%
2	DSM 32611	E.coli - O <sub>55</sub> B <sub>5</sub>	Podoviridae; C1 капсид – 56 nm хвост – 16 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 6 мм, с ярким центром и ореолом	2×10 <sup>9</sup> 1×10 <sup>11</sup>	K <sub>5</sub> =3,76×10 <sup>-9</sup> 84.8%
3	DSM 32610	E.coli - O <sub>26</sub> B <sub>6</sub>	Myoviridae; A1 капсид – 72 nm хвост – 120 nm (x 250 000)	Среднего размера диаметром 2-2,5 мм прозрачные колонии	4×10 <sup>10</sup> 4×10 <sup>11</sup>	K <sub>5</sub> =3,58×10 <sup>-9</sup> 83.3%

Таблица 4

N	Наименование фага	Наименование клетка-хозяина	Морфология вириона	Морфология негативных колоний фага	Титр фага; Титр конц. (PFU/ml)	К адсорбции (мл/мин.) и % 5 мин.
1	DSM 32613	<i>Proteus vulgaris</i> -1	Podoviridae; C1 Размер головы гексагональной формы – 56.5 nm Длина короткого хвоста – 8.7nm (x 230 000)	Колонии диаметром 4 мм. 2 миллиметровым ярким центром и ореолом	$1 \times 10^9$ $4 \times 10^{10}$	$K_s=1,23 \times 10^{-9}$ 84.12%
2	DSM 32614	<i>Proteus vulgaris</i> -125	Podoviridae; C1 Размер вытянутой головы – 61 nm Длина короткого хвоста – 13 nm (x 230 000)	Большого размера колонии диаметром 4.5-5 мм. с ярким центром и ореолом	$6 \times 10^8$ $1 \times 10^{11}$	$K_s=6,49 \times 10^{-9}$ 80.3%
3	DSM 32615	<i>Proteus vulgaris</i> -509	Siphoviridae; B1 размер головы – 82.6 nm Длина длинного, гибкого хвоста - 391.3 nm (x 230 000)	Большого размера колонии диаметром 6-6.5 мм., с небольшого размера (маленьким) ярким центром и ореолом с неправильными краями	$2 \times 10^9$ $1 \times 10^{11}$	$K_s=9,31 \times 10^{-9}$ 90.3%

Таблица 5

N	Наименование фага	Наименование клетка-хозяина	Морфология вириона	Морфология негативных колоний фага	Титр фага; Титр конц. (PFU/ml)	К адсорбции (мл/мин.) и % 5 мин.
1	DSM 32616	<i>P.aeruginosa</i> - 157	Podoviridae; C1 капсид – 56 nm хвост – 16 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 7 мм, ярким центром и ореолом с неровными краями	$4 \times 10^{10}$ $5 \times 10^{11}$	$K_s=4 \times 10^{-9}$ 86%
2	DSM 32618	<i>P.aeruginosa</i> - 27853	Podoviridae; C1 капсид – 68 nm хвост – 8 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 4 мм, с прозрачным центром и ореолом маленького размера	$1 \times 10^{10}$ $1 \times 10^{11}$	$K_s=3,89 \times 10^{-9}$ 85.7%
3	DSM 32617	<i>P.aeruginosa</i> - 573	Siphoviridae; B1 капсид – 64nm хвост – 140 nm (x 250 000)	Среднего размера колонии диаметром 3-3,5 мм, с ярким центром и ореолом	$2 \times 10^9$ $2 \times 10^{11}$	$K_s=3,4 \times 10^{-9}$ 82%

Таблица 6

N	Наименование фага	DSM 32631	DSM 32629	DSM 32630	DSM 32634	DSM 32635	DSM 32612	DSM32611	DSM32610	DSM32613	DSM32614	DSM32615	DSM32616	DSM32618	DSM 32617
	Наименование бактериального штамма														
1	<i>S.aureus 14</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	<i>S.aureus 50</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	<i>S.aureus 51</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	<i>S.aureus 52</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	<i>S.aureus 53</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	<i>S.aureus 54</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	<i>S.aureus 55</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	<i>S.aureus 56</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	<i>S.aureus 57</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	<i>S.aureus 58</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	<i>S.aureus 59</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	<i>S.aureus 501</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	<i>S.aureus 502</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	<i>S.aureus 503</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	<i>S.aureus 504</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	<i>S.aureus 505</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	<i>S.aureus 506</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	<i>S.aureus 507</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	<i>S.aureus 508</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	<i>S.aureus 509</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	<i>S.aureus 510</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	<i>S.aureus 511</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	<i>S.aureus 512</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	<i>S.aureus 513</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	<i>S.aureus 514</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	<i>S.aureus 515</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	<i>S.aureus 516</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	<i>S.aureus 517</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	<i>S.aureus 518</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	<i>S.aureus 519</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	<i>S.aureus 520</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	<i>S.aureus 521</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	<i>S.aureus 522</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	<i>S.aureus 523</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	<i>S.aureus 524</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

36	<i>S.aureus</i> 525	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	<i>S.pyogenes</i> 19615	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	<i>S.pyogenes</i> 21059				+	+									
39	<i>Str.pyogenes</i> 21				+	+									
40	<i>S.pyogenes</i> 22				+	+									
41	<i>S.pyogenes</i> 23	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	<i>E.coli</i> B5	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
43	<i>E.coli</i> B6	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
44	<i>E.coli</i> B21	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
45	<i>E.coli</i> 43888	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
46	<i>E.coli</i> 43899	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
47	<i>E.coli</i> 104	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
48	<i>E.coli</i> 105	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
49	<i>E.coli</i> 106	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
50	<i>E.coli</i> 107	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
51	<i>E.coli</i> 108	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
52	<i>E.coli</i> 109	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
53	<i>E.coli</i> 110	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
54	<i>E.coli</i> 111	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
55	<i>E.coli</i> 112	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
56	<i>E.coli</i> 113	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
57	<i>E.coli</i> 114	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
58	<i>E.coli</i> 115	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
59	<i>E.coli</i> 116	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60	<i>E.coli</i> 117	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
61	<i>E.coli</i> 118	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
62	<i>E.coli</i> 119	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
63	<i>E.coli</i> 120	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
64	<i>E.coli</i> 121	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
65	<i>E.coli</i> 122	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
66	<i>E.coli</i> 123	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
67	<i>E.coli</i> 124	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
68	<i>E.coli</i> 125	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
69	<i>E.coli</i> 126	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
70	<i>E.coli</i> 127	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
71	<i>E.coli</i> 128	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
72	<i>E.coli</i> 129	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
73	<i>E.coli</i> 130	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
74	<i>E.coli</i> 131	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
75	<i>E.coli</i> 132	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-

76	<i>E.coli 133</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
77	<i>E.coli 134</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
78	<i>Proteus m. 13315</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
79	<i>Proteus m. 6A</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
80	<i>Proteus m. 35</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
81	<i>Proteus v. 13</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
82	<i>Proteus v. 1</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
83	<i>Proteus v. 125</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
84	<i>Proteus v. 509</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
85	<i>P.aeruginosa 80</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
86	<i>P.aeruginosa 81</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
87	<i>P.aeruginosa 82</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
88	<i>P.aeruginosa 83</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
89	<i>P.aeruginosa 84</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	<i>P.aeruginosa 85</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
91	<i>P.aeruginosa 86</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
92	<i>P.aeruginosa 87</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
93	<i>P.aeruginosa 88</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
94	<i>P.aeruginosa 89</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
95	<i>P.aeruginosa 801</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
96	<i>P.aeruginosa 802</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
97	<i>P.aeruginosa 803</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
98	<i>P.aeruginosa 804</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
99	<i>P.aeruginosa 805</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

100	<i>P.aeruginosa</i> 806	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
101	<i>P.aeruginosa</i> 807	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
102	<i>P.aeruginosa</i> 808	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
103	<i>P.aeruginosa</i> 809	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
104	<i>P.aeruginosa</i> 811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
105	<i>P.aeruginosa</i> 812	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
106	<i>P.aeruginosa</i> 813	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
107	<i>P.aeruginosa</i> 814	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
108	<i>P.aeruginosa</i> 815	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
109	<i>P.aeruginosa</i> 816	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
110	<i>P.aeruginosa</i> 817	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
111	<i>P.aeruginosa</i> 818	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
112	<i>P.aeruginosa</i> 819	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
113	<i>P.aeruginosa</i> 820	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
114	<i>P.aeruginosa</i> 821	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
115	<i>P.aeruginosa</i> 822	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
116	<i>P.aeruginosa</i> 823	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
117	<i>P.aeruginosa</i> 824	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
118	<i>P.aeruginosa</i> 825	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
119	<i>P.aeruginosa</i> 826	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
120	<i>P.aeruginosa</i> 157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
121	<i>P.aeruginosa</i> 573	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
122	<i>P.aeruginosa</i> 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антимикробная композиция характеризуется тем, что содержит:

а) обладающие литической активностью в отношении *Staphylococcus aureus* штаммы бактериофагов: DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

б) обладающие литической активностью в отношении *Streptococcus pyogenes* штаммы бактериофагов: DSM 32634 и DSM 32635, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

в) обладающие литической активностью в отношении *Escherichia coli* штаммы бактериофагов: DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

г) обладающие литической активностью в отношении *Proteus vulgaris* штаммы бактериофагов: DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

д) обладающие литической активностью в отношении *Pseudomonas aeruginosa* штаммы бактериофагов: DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ), при этом каждый мл композиции содержит штаммы бактериофагов в следующих количествах:

DSM 32631	$3 \times 10^{10}$
DSM 32629	$1 \times 10^{10}$
DSM 32630	$5 \times 10^{10}$
DSM 32634	$4 \times 10^9$
DSM 32635	$6 \times 10^9$
DSM 32612	$1 \times 10^{10}$
DSM 32611	$2 \times 10^9$
DSM 32610	$4 \times 10^{10}$
DSM 32613	$1 \times 10^9$
DSM 32614	$6 \times 10^8$
DSM 32615	$2 \times 10^9$
DSM 32616	$4 \times 10^{10}$
DSM 32618	$1 \times 10^{10}$
DSM 32617	$2 \times 10^9$
или	
DSM 32631	$3 \times 10^{11}$
DSM 32629	$4 \times 10^{11}$
DSM 32630	$2 \times 10^{11}$
DSM 32634	$1 \times 10^{11}$
DSM 32635	$4 \times 10^{11}$
DSM 32612	$3 \times 10^{11}$
DSM 32611	$1 \times 10^{11}$
DSM 32610	$4 \times 10^{11}$
DSM 32613	$4 \times 10^{10}$
DSM 32614	$1 \times 10^{11}$
DSM 32615	$1 \times 10^{11}$
DSM 32616	$5 \times 10^{11}$
DSM 32618	$1 \times 10^{11}$
DSM 32617	$2 \times 10^{11}$

2. Композиция по п.1 характеризуется тем, что дополнительно содержит фармацевтически принимаемую добавку.

3. Композиция по пп.1, 2 характеризуется тем, что ее форма избрана из следующей группы: жидкая форма, спрей, таблетка, порошок, капсула, мазь, супозитор.

4. Применение антимикробной композиции по пп.1-3 для лечения или профилактики гнойно-воспалительных инфекций.

5. Применение антимикробной композиции по п.4 для лечения или профилактики гнойно-воспалительных инфекций у людей.

6. Применение антимикробной композиции по п.4 для лечения или профилактики гнойно-воспалительных инфекций среди животных и птиц.

7. Применение антимикробной композиции по пп.4, 5 для лечения бактериальных инфекций дыха-

тельных путей, хирургических инфекций, урогенитальных заболеваний, заболеваний системы пищеварения, гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваний у новорожденных и детей грудного возраста.

8. Применение антимикробной композиции по п.7, где бактериальные инфекции дыхательных путей избраны из следующей группы: риниты, отиты, ангина, ларингиты, трахеиты, бронхиты, пневмония и плеврит.

9. Применение антимикробной композиции по п.7, где хирургические инфекции избраны из следующей группы: гнойные раны, ожоги, абсцесс, флегмона, фурункул, карбункул, гидраденит, панарициум, парапроктит, мастит, бурсит и остеомиелит.

10. Применение антимикробной композиции по п.7, где урогенитальные заболевания избраны из следующей группы: уретрит, цистит, бактериурия, пиелонефрит, колпит, вульвит, бартолинит, эндоцервицит, эндометрит и сальпингоофорит.

11. Применение антимикробной композиции по п.7, где заболевания системы пищеварения избраны из следующей группы: энтериты, гастроэнтериты, колиты, гастроэнтероколиты, пищевые токсикоинфекции, холециститы и дисбактериоз.

12. Применение антимикробной композиции по п.7, где гнойно-воспалительные и энтеральные заболевания у новорожденных и детей грудного возраста избраны из следующей группы: омфалит, пиодермия, гастроэнтерит, гастроэнтероколит и дисбактериоз.

13. Применение антимикробной композиции по п.4, где профилактика охватывает обработку агрикультур, аквакультур, пищевых продуктов, санацию окружающей среды.

14. Обладающий литической активностью в отношении *Staphylococcus aureus* штамм изолированного бактериофага DSM 32631, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

15. Обладающий литической активностью в отношении *Staphylococcus aureus* штамм изолированного бактериофага DSM 32629, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

16. Обладающий литической активностью в отношении *Staphylococcus aureus* штамм изолированного бактериофага DSM 32630, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

17. Обладающий литической активностью в отношении *Streptococcus pyogenes* штамм изолированного бактериофага DSM 32634, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

18. Обладающий литической активностью в отношении *Streptococcus pyogenes* штамм изолированного бактериофага DSM 32635, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

19. Обладающий литической активностью в отношении *Escherichia coli* штамм изолированного бактериофага DSM 32612, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

20. Обладающий литической активностью в отношении *Escherichia coli* штамм изолированного бактериофага DSM 32611, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

21. Обладающий литической активностью в отношении *Escherichia coli* штамм изолированного бактериофага DSM 32610, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

22. Обладающий литической активностью в отношении *Proteus vulgaris* штамм изолированного бактериофага DSM 32613, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

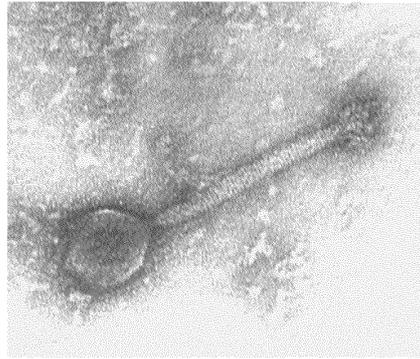
23. Обладающий литической активностью в отношении *Proteus vulgaris* штамм изолированного бактериофага DSM 32614, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

24. Обладающий литической активностью в отношении *Proteus vulgaris* штамм изолированного бактериофага DSM 32615, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

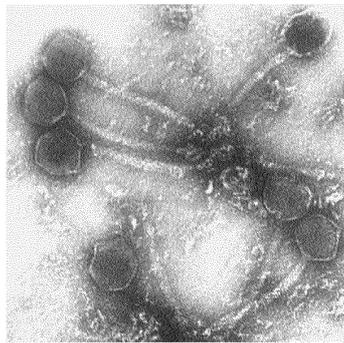
25. Обладающий литической активностью в отношении *Pseudomonas aeruginosa* штамм изолированного бактериофага DSM 32616, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

26. Обладающий литической активностью в отношении *Pseudomonas aeruginosa* штамм изолированного бактериофага DSM 32618, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

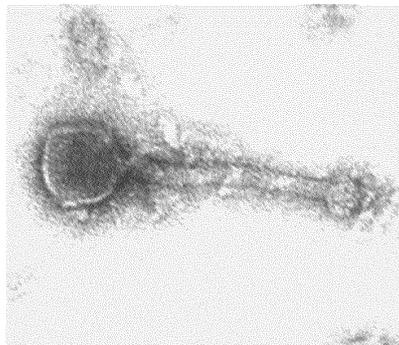
27. Обладающий литической активностью в отношении *Pseudomonas aeruginosa* штамм изолированного бактериофага DSM 32617, который депонирован в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).



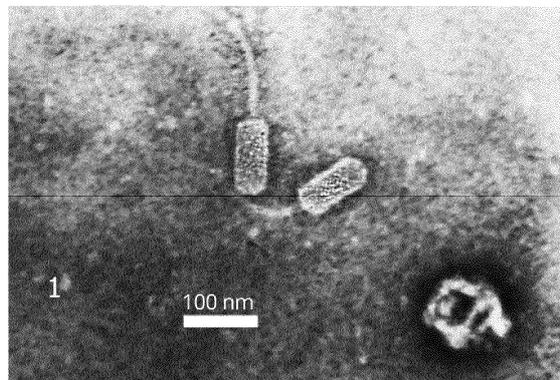
Фиг. 1



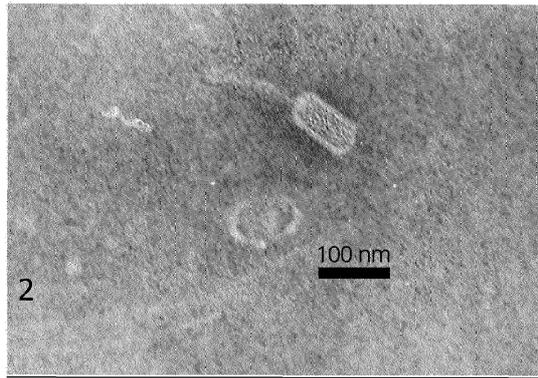
Фиг. 2



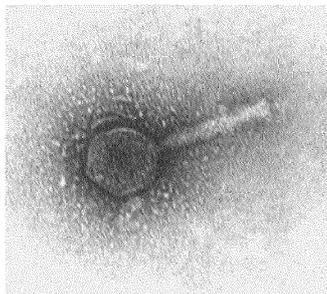
Фиг. 3



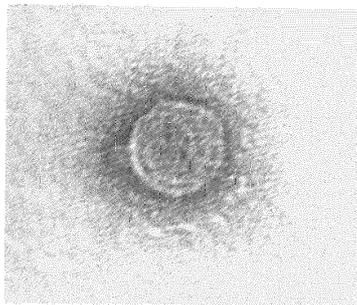
Фиг. 4



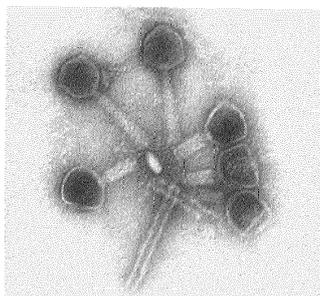
Фиг. 5



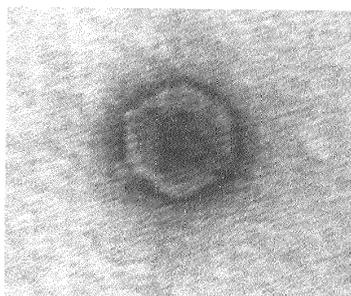
Фиг. 6



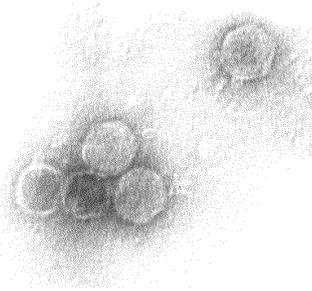
Фиг. 7



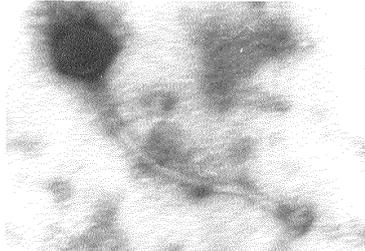
Фиг. 8



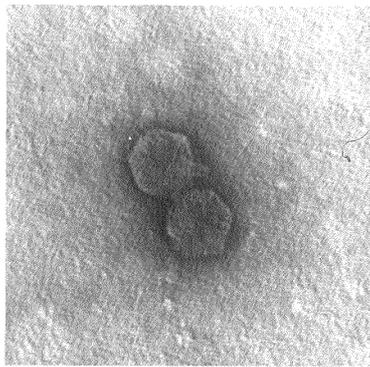
Фиг. 9



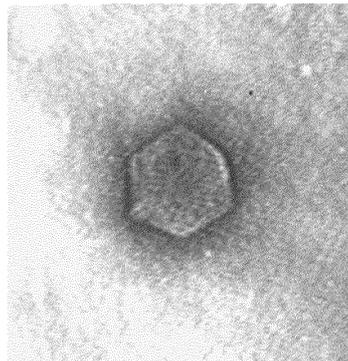
Фиг. 10



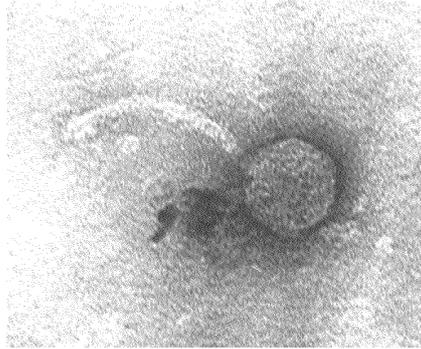
Фиг. 11



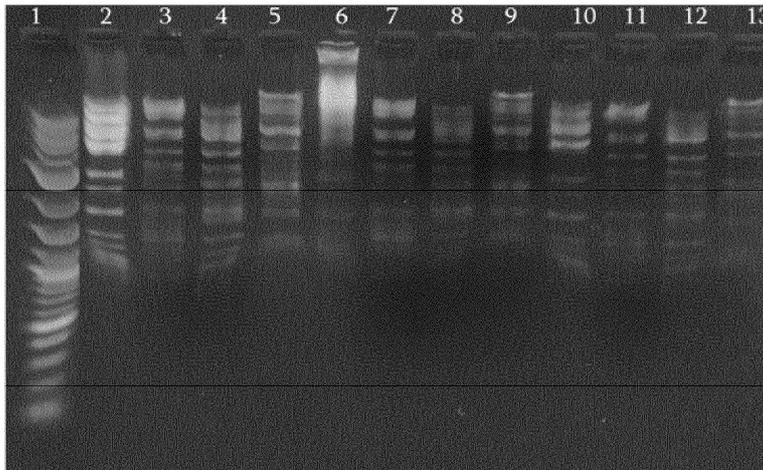
Фиг. 12



Фиг. 13

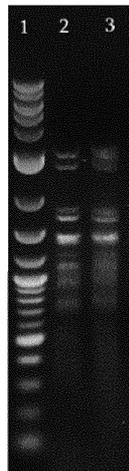


Фиг. 14



1 - Маркер ДНК, 2 - DSM 32631 + EcoRI, 3 - DSM 32631 + EcoRV, 4 - DSM 32631 + HindIII, 5 - DSM 32631 + SpeI, 6 - DSM 32630 + EcoRI, 7 - DSM 32630 + EcoRV, 8 - DSM 32630 + HindIII, 9 - DSM 32630 + SpeI, 10 - DSM 32629 + EcoRI, 11 - DSM 32629 + EcoRV, 12 - DSM 32629 + HindIII, 13 - DSM 32629 + SpeI

Фиг. 15



1 - Маркер ДНК  
2 - DSM 32634 + HindIII  
3 - DSM 32635 + HindIII

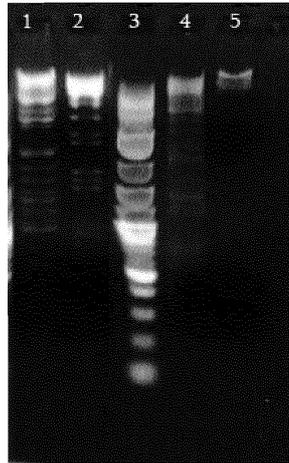
Фиг. 16

046133



1 - Маркер ДНК  
2 - DSM 32634 + AflIII  
3 - DSM 32635 + AflIII

Фиг. 17



1 - DSM 32612 + EcoRV, 2 - DSM 32612 + AflIII, 3 - Маркер ДНК, 4 - DSM 32610 + EcoRV, 5 - DSM 32611 + EcoRV.

Фиг. 18



1 - Маркер ДНК  
2 - DSM 32613 + AflIII  
3 - DSM 32614 + AflIII  
4 - DSM 32615 + AflIII

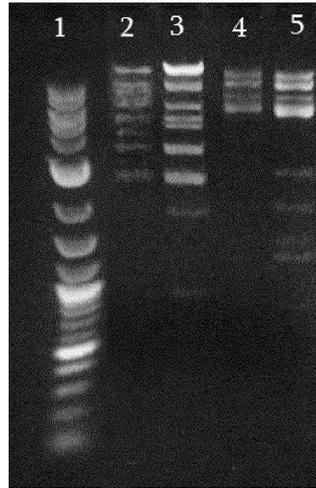
Фиг. 19



1 - Маркер ДНК  
2 - DSM 32613 + HindIII  
3 - DSM 32615 + HindIII  
4 - DSM 32614 + HindIII  
Фиг. 20



1 - Маркер ДНК,  
2 - DSM 32616 + HindIII  
Фиг. 21



1 - Маркер ДНК, 2 - DSM 32617 + EcoRV,  
3 - DSM 32618 + EcoRV, 4 - DSM 32617 + HindIII,  
5 - DSM 32618 + HindIII

Фиг. 22

