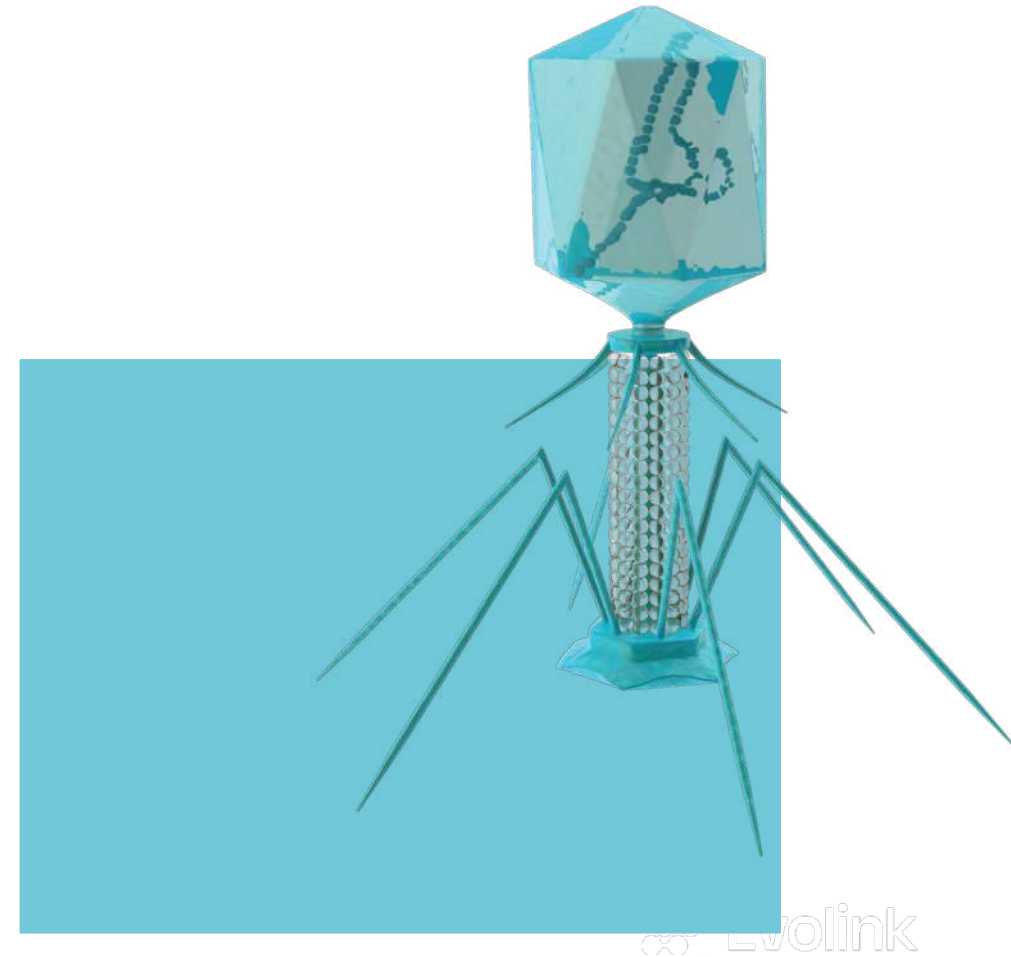


Бактериофаговые препараты – новый тренд

Пименов Николай Васильевич

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой иммунологии и биотехнологии
Московской государственной академии ветеринарной
медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина,
научный консультант ЦБО «Микроэкологии» (Evolink),
Почетный работник Агропромышленного комплекса России,
Профессор Российской Академии Наук

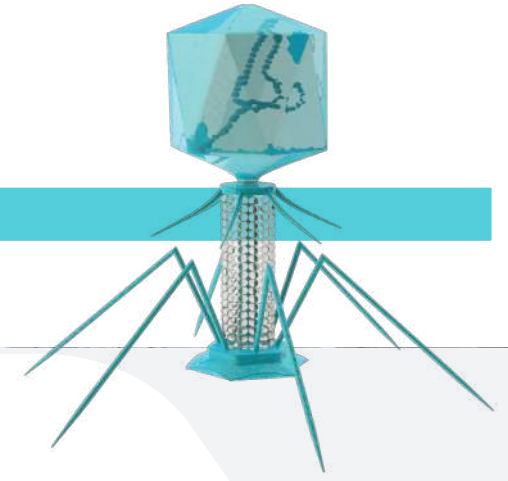


Бактериальные инфекции сельскохозяйственных животных и птицы

- ❖ Колибактериозы
- ❖ Сальмонеллезы
- ❖ Стрептококкозы
- ❖ Стафилококкоз
- ❖ Псевдомоноз
- ❖ Листериоз
- ❖ Клебсиеллез
- ❖ Пастереллез
- ❖ Бордетеллез и другие



Антибиотикорезистентность



Природная
(генетическая)

Приобретённая

Возникает в результате мутаций отдельных штаммов и селекции устойчивых клонов бактерий с передачей генетической информации (вертикальный перенос) и в результате внехромосомного (плазмидного) обмена генетической информацией между отдельными бактериальными клетками (горизонтальный перенос)

Список ВОЗ приоритетных возбудителей заболеваний для НИОКР в области создания новых антибиотиков

1 категория приоритетности:

Критически высокий уровень приоритетности

- ❖ **Acinetobacter baumannii**- устойчивы к карбапенемам
- ❖ **Pseudomonas aeruginosa**- устойчивы к карбапенемам
- ❖ **Enterobacteriaceae**- устойчивы к карбапенемам, вырабатывают БЛРС. Высокий уровень приоритетности

2 категория приоритетности:

Высокий уровень приоритетности

- ❖ **Enterococcus faecium**- устойчивы к ванкомицину
- ❖ **Staphylococcus aureus**- устойчивы к метициллину, умеренно чувствительны или устойчивы к ванкомицину
- ❖ **Helicobacter pylori**- устойчивы к кларитромицину
- ❖ **Campylobacter spp.**- устойчивы к фторхинолонам
- ❖ **Salmonellae**- устойчивы к фторхинолонам
- ❖ **Neisseria gonorrhoeae**- устойчивы к цефалоспорином, фторхинолонам

3 категория приоритетности:

Средний уровень приоритетности

- ❖ **Streptococcus pneumoniae**- не чувствительны к пенициллину
- ❖ **Haemophilus influenzae**- устойчивы к ампициллину
- ❖ **Shigella spp.**- устойчивы к фторхинолонам



ПРАВИТЕЛЬСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РАСПОРЯЖЕНИЕ

от 30 марта 2019 г. № 604-р

МОСКВА

ПЛАН МЕРОПРИЯТИЙ

на 2019 - 2024 годы по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года

Мероприятие	Вид документа	Ответственные исполнители	Срок исполнения мероприятия
I. Нормативно-правовое регулирование по вопросам предупреждения и преодоления распространения антимикробной резистентности			
1. Создание правовых оснований для предупреждения и преодоления распространения антимикробной резистентности в рамках государственного регулирования в области обеспечения биологической безопасности	федеральный закон	Минздрав России, заинтересованные федеральные органы исполнительной власти	2019 год
2. Введение запрета на использование противомикробных препаратов для ветеринарного применения не в лечебных целях	федеральный закон	Минсельхоз России, Минздрав России	2020 год
3. Регулирование использования противомикробных препаратов при изготовлении кормов (внесение изменений в Закон Российской Федерации "О ветеринарии")	федеральный закон	Минсельхоз России, Россельхознадзор	2020 год

Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года

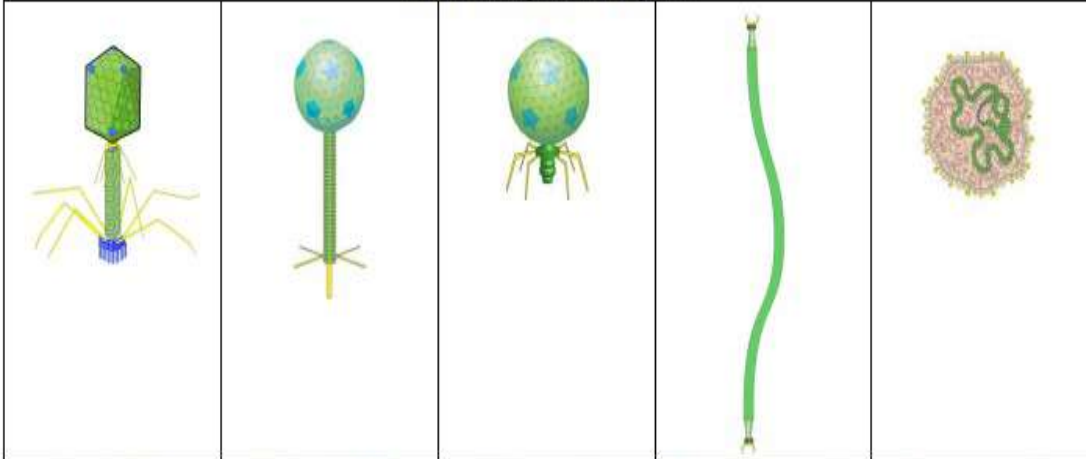


Целью Стратегии является повышение эффективности профилактики и лечения инфекционных и паразитарных болезней человека, животных и растений, связанных с распространением устойчивости микроорганизмов.

Задачи Стратегии:

- ❖ Информирование населения по вопросам применения антимикробных лекарственных препаратов
- ❖ Повышение уровня профессиональной подготовки специалистов по вопросам устойчивости микроорганизмов
- ❖ Формирование законодательства о биологической и химической безопасности
- ❖ Сдерживание формирования и распространения внутрибольничных штаммов микроорганизмов, обладающих устойчивостью к лекарственным препаратам
- ❖ Разработка оригинальных антимикробных лекарственных препаратов и создание альтернативных методов лечения и профилактики инфекционных болезней человека, животных и растений - **в том числе на основе бактериофагов**
- ❖ Обеспечение мониторинга за распространением устойчивости микроорганизмов и вредных организмов растений
- ❖ Развитие международного сотрудничества по выработке и реализации общих подходов к сдерживанию распространения устойчивости микроорганизмов и вредных организмов растений

ДНК-содержащие фаги



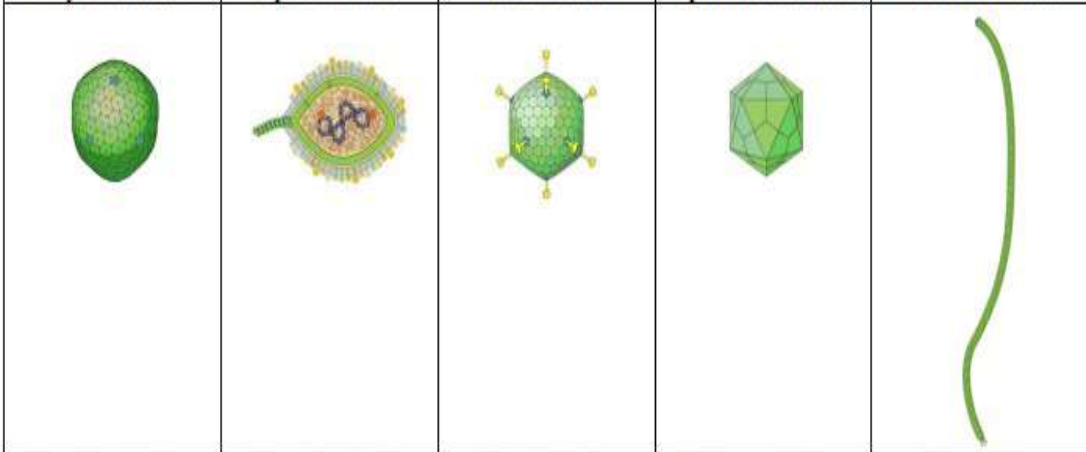
Myoviridae

Siphoviridae

Podoviridae

Lipothrixviridae

Plasmaviridae



Corticoviridae

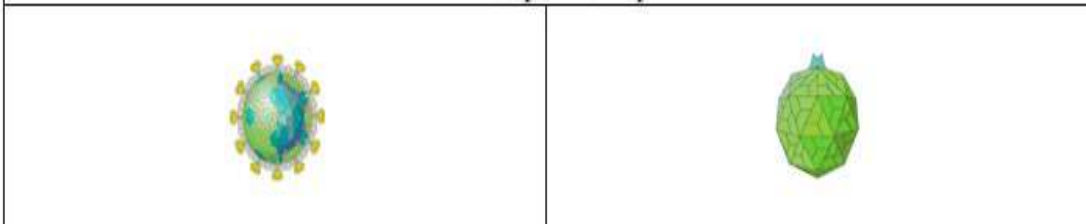
Fuselloviridae

Tectiviridae

Microviridae

Inoviridae

РНК-содержащие фаги



Cystoviridae

Leviviridae



Evolink

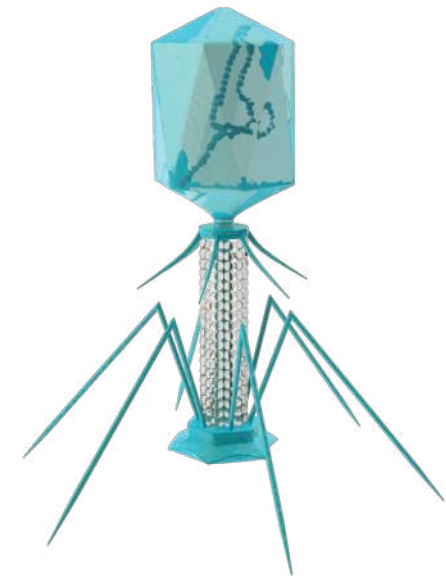
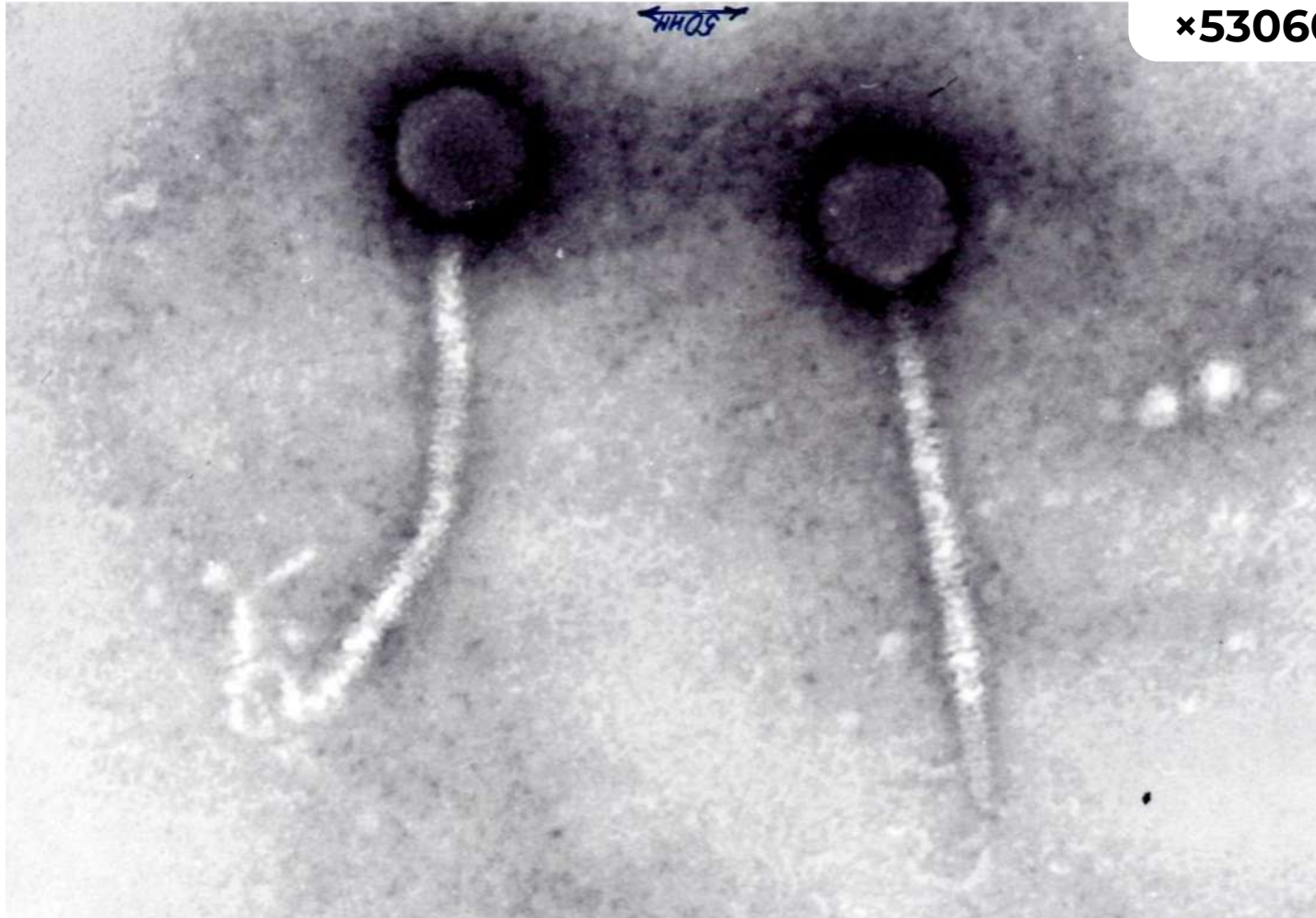


10^{30} - 10^{32} фаговых частиц на Земле

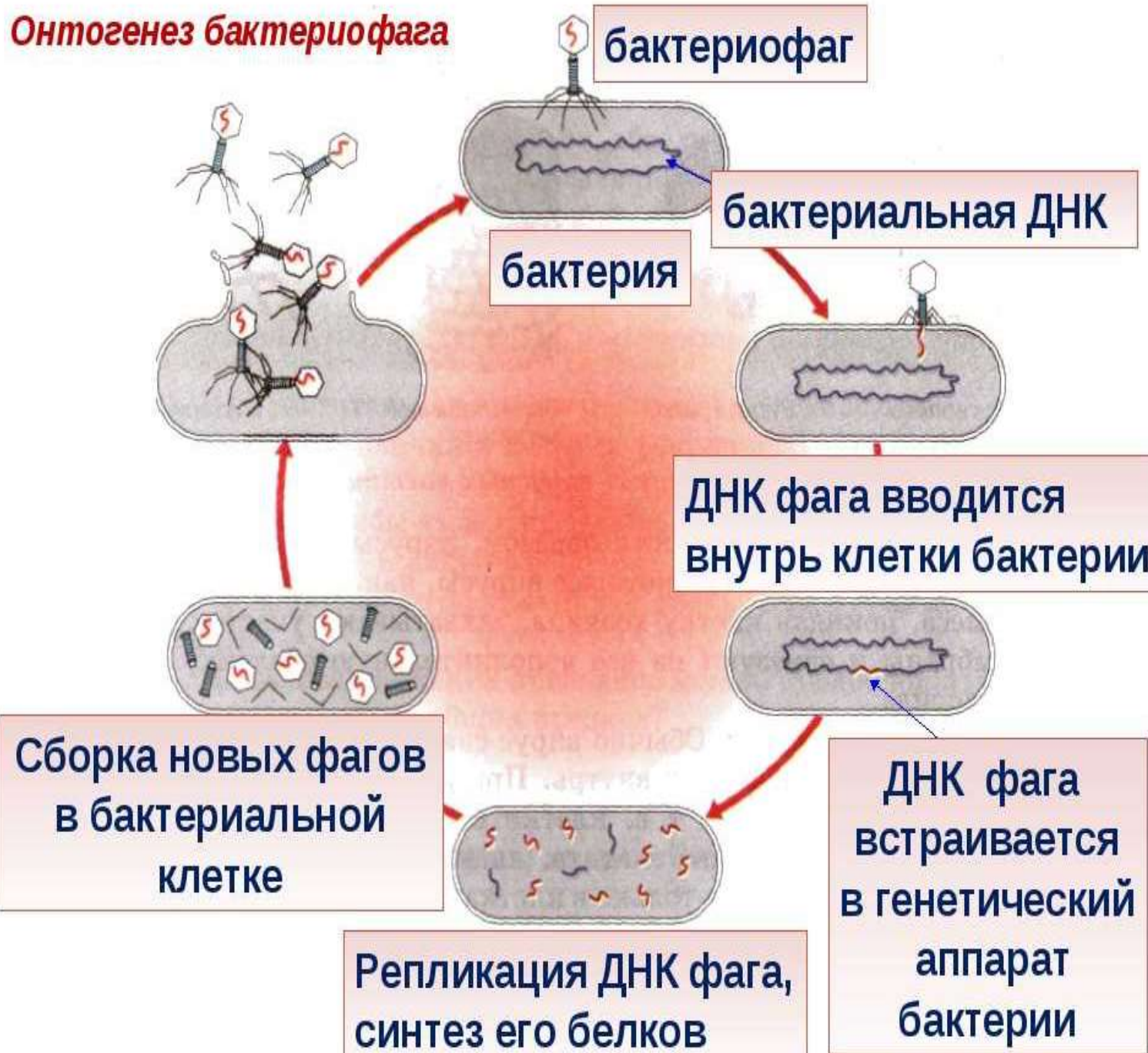
Фаги входят в состав микробиоты человека и животных и являются **ОДНИМ ИЗ ГЛАВНЫХ естественных регуляторов **численности бактерий****

Бактериофаги

Электронная
фотография, увеличение
×53060

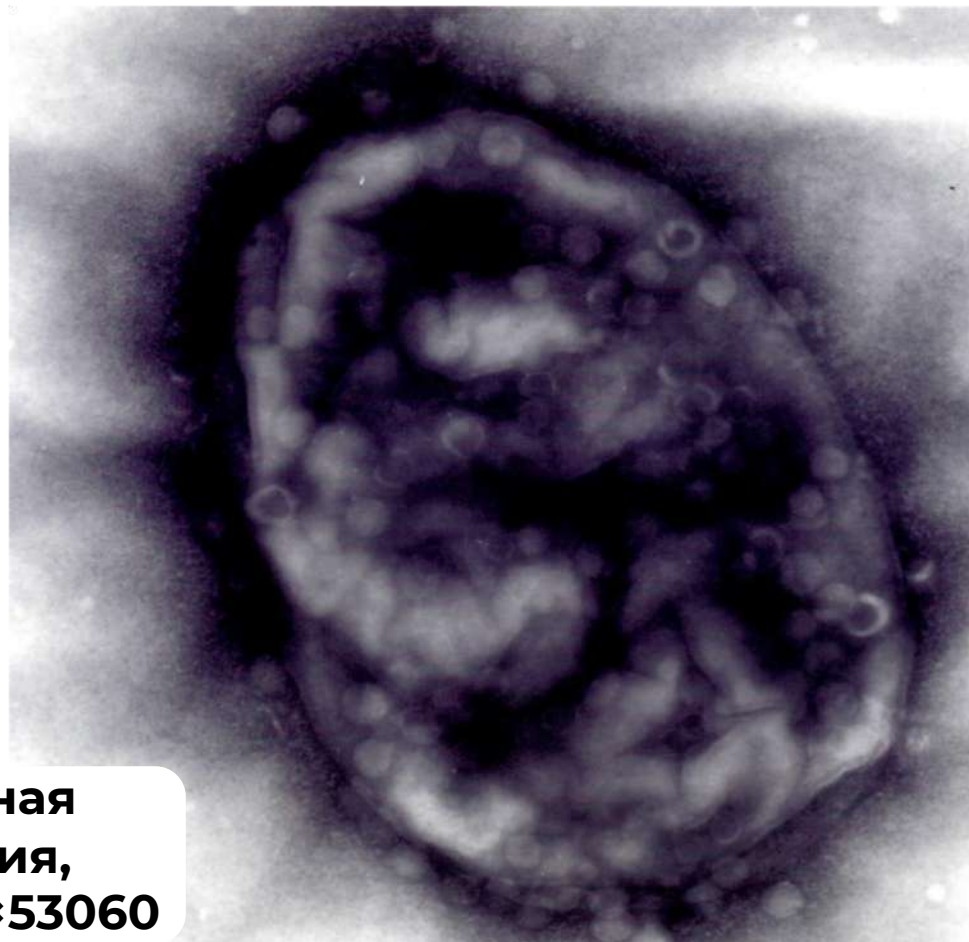


Онтогенез бактериофага



Phagum Salmonella typhimurium № 5-T3

на клетке сальмонелл



Электронная
фотография,
увеличение ×53060

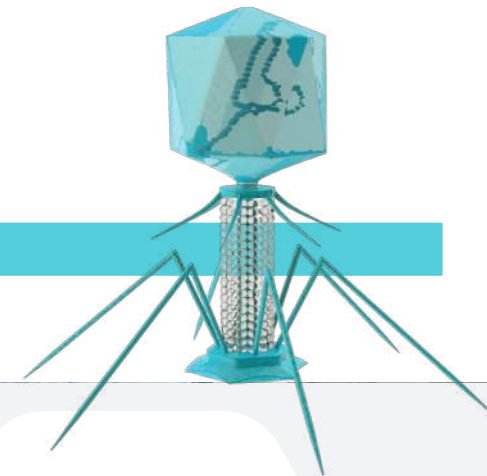


Г.Г. Элиава 1892-1937

Лекарственные средства на основе бактериофагов



Ошибки прошлого:



Не исключали профаг
в матричной культуре
бактерий



Развитие
фагоустойчивости
на 4-7 пассаж
применения

Не проводили точной
диагностики



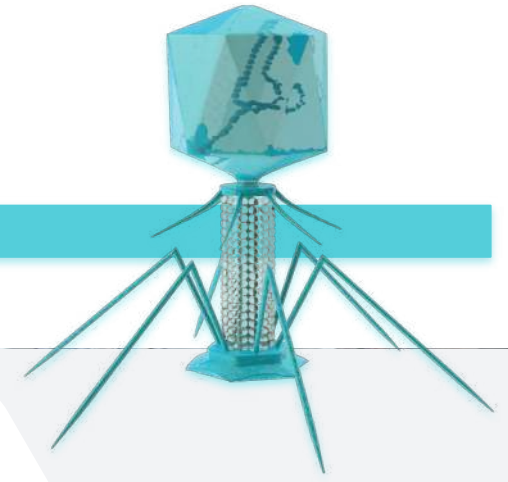
Отсутствие
ожидаемого эффекта
в следствие
неспецифичности
применения

Не отработанные
технологии: титр –
экспозиция



Недостаточный
эффект

Современный этап:



Новые методы
культивирования

Высокие титры,
низкое содержание
эндотоксинов

Безопасность,
экологичность

Контроль профагов,
штаммы резерва

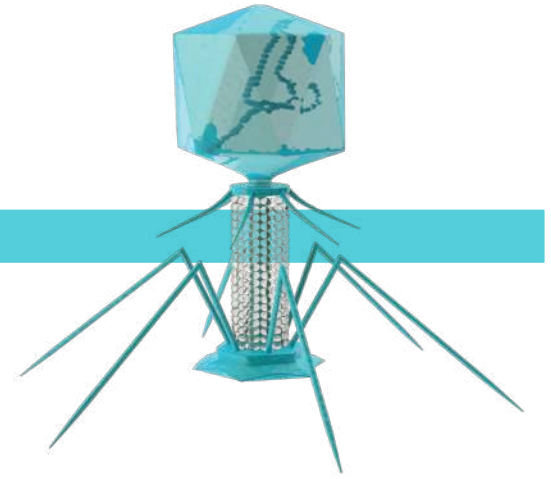
Предупреждение
фагоустойчивости

Контроль
вирулентности
и специфичности

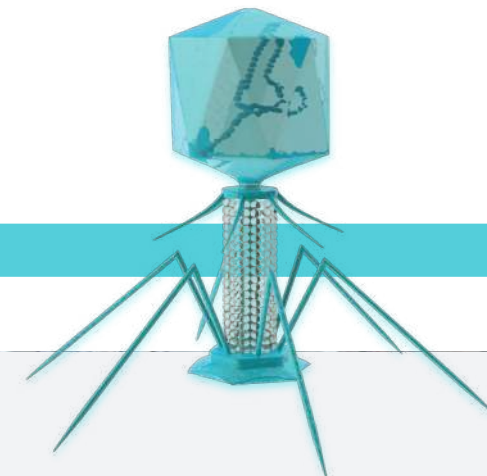
Лечебно-
профилактическая
и saniрующая
эффективность

Преимущества:

- ❖ **Бактериофаги безопасны, не оказывают влияния на организм человека и животного.** Не проникают в клетки, не токсичны, не вызывают побочных эффектов.
- ❖ **Возможность подобрать средство для борьбы с конкретным штаммом возбудителя,** в соответствии с эпизоотической ситуацией на конкретном предприятии.
- ❖ После уничтожения патогена **самовыводятся из организма.**
- ❖ **Не следуют классической для фармакологии зависимости эффекта от дозы.**
- ❖ **Действуют только в очаге инфекции,** в отличие от антибиотиков, которые при приеме внутрь распределяются по организму и действуют во всех органах и тканях.
- ❖ **Стимулируют иммунную систему** к выработке специфических антител.
- ❖ **Сочетаются с другими препаратами,** в том числе с антибиотиками.



Основные направления применения бактериофагов



Профилактика и лечение инфекционных заболеваний у животных



Повышение биобезопасности и экологической безопасности животноводческих хозяйств и их продукции



Повышение эффективности сохранения мясной, молочной, рыбной продукции, в том числе полуфабрикатов



Использование для профилактики инфекционных заболеваний у человека



Использование для профилактики распространения инфекционных заболеваний у человека и животных в чрезвычайных ситуациях, условиях военных конфликтов, биотеррористических атак

В настоящее время применяют два основных подхода к получению препаратов бактериофагов:

Первый — это разработка комбинаций большого количества литических фагов, активных в отношении широкого спектра эпидемиологически актуальных групп возбудителей.

- * Данный системный подход практикуется в настоящее время для лекарственных препаратов, внесенных в Государственный реестр лекарственных средств.
- * Эту группу препаратов характеризует производство в условиях соблюдения правил надлежащей производственной практики организацией-производителем, имеющей лицензию на производство лекарственных средств.
- * Этот вид деятельности урегулирован Федеральным законом Российской Федерации № 61-ФЗ. Лицензирование деятельности по производству лекарственных средств предусмотрено требованиями пункта 16 части 1 статьи 12 Федерального закона Российской Федерации № 99-ФЗ.

В настоящее время применяют два основных подхода к получению препаратов бактериофагов:

Второй — заключается в том, что к выделенному возбудителю в каждом клиническом случае подбираются активные фаги. В большинстве случаев в состав готового препарата входит 1-3 культуры бактериофага.

Источником выбора бактериофагов являются фонды официальных коллекций.

- * Данный способ является элементом персонализированной медицины и предусматривает изготовление готовой лекарственной формы в медицинской организации, что является составной частью фармацевтической деятельности, лицензирование которой предусмотрено на основании требований пункта 47 части 1 статьи 12 Федерального закона Российской Федерации № 99-ФЗ.
- * Таким образом, медицинская организация обязана иметь лицензию на фармацевтическую деятельность, на нее возлагается необходимость формирования фармацевтической системы качества при изготовлении лекарственного препарата.

Эволюция компании

2023 **EVOLINK**, разработка лекарственного препарата *Эшрифэг* (EshriPhage), обладающего способностью специфически лизировать патогенные серотипы:

Escherichia coli, а также *Salmonella enteritidis*, *Salmonella infantis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, *Salmonella gallinarum-pullorum*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella bredeney*, *Salmonella reading*, *Salmonella virchow**

(базовый вариант - 9 сероваров сальмонелл с возможностью актуализации состава)



Коли-сальмонеллезный бактериофаг концентрированный «ЭШРИФАГ»

100 мл (10000 доз).

Доза — $1 \cdot 10^7$ - $9 \cdot 10^8$ (БОЕ) бактериофагов против *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *S. infantis*, *S. typhimurium*



Участник

Объем:	№ серии:	Дата изготовления:	Годен до:
100 мл	000	20.11.2022	20.11.2023

СТО 19680923-006-2022

Способ применения: применять перорально и аэрозольно согласно инструкции. **Лекарственная форма:** раствор для орального и аэрозольного применения. **Условия хранения:** хранить в недоступном для детей месте при температуре от 2 °С до 8 °С. Допускается хранение и транспортирование лекарственного препарата при температуре от 9 °С до 25 °С не более 1 месяца.

Производитель: ФКП «Армавирская биофабрика», Краснодарский край, Новокубанский район, пос. Прогресс, ул. Мечникова, дом 11 для ООО «ЦБО Микробиологии» Москва, Территория инновационного центра «Сколково» Большой бульвар, 42, корпус 1. эт/пом/раб 0/157/5

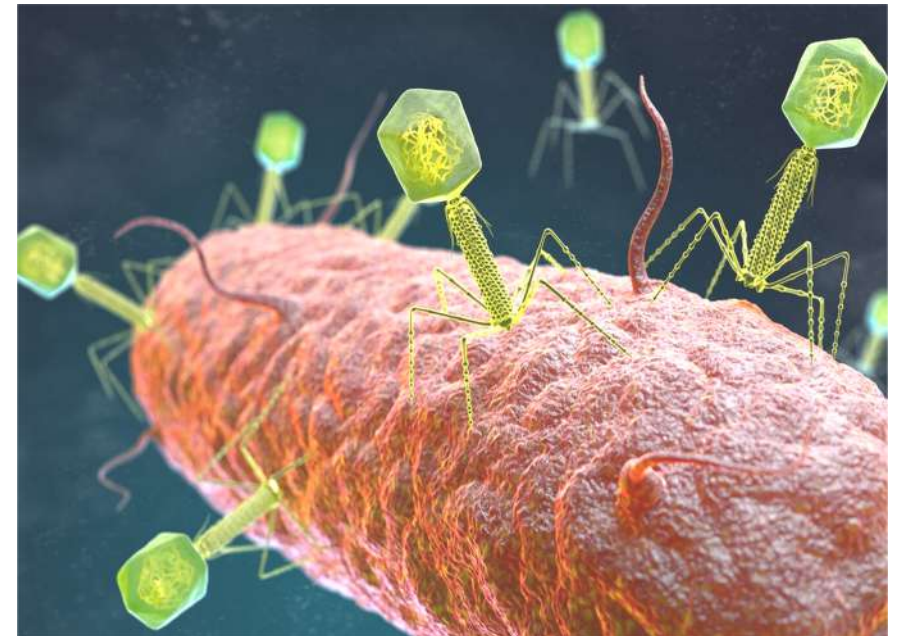
Срок годности: 18 месяцев. После вскрытия использовать в течении 72 часов
Условия отпуска: без рецепта

Для ветеринарного применения,
При помутнении не применять,
Стерильно



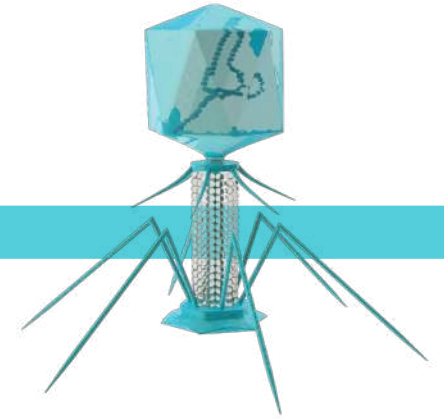
4 605894 011475

РУ 00000000000000000000



www.evolink.bi

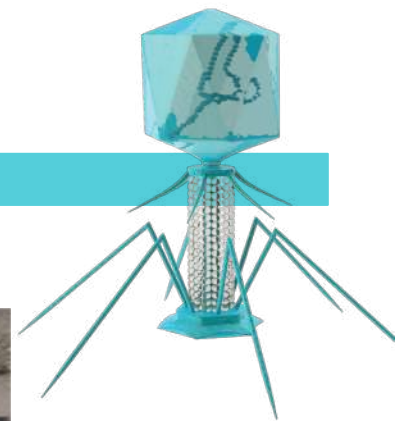




ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ЭШРИФАГ (ESHRIPHAGE)

- предназначен для профилактики и лечения эшерихиоза и сальмонеллеза у свиней и сельскохозяйственных птиц всех видов, направлений продуктивности и возрастов
- содержит штаммы бактериофагов *Escherichia coli* BF-1351, *Salmonella enteritidis* BF-1354, *Salmonella infantis* BF-1355 и *Salmonella typhimurium* BF-1356
- дата регистрации – апрель 2023 года
- применяется для лечения и профилактики эшерихиоза и сальмонеллеза птиц (включая пуллороз); колибактериоза, отечной болезни и паратифа свиней
- обладает способностью специфически лизировать патогенные серотипы *Escherichia coli*, а также *Salmonella enteritidis*, *S. infantis*, *S. typhimurium*, *S. dublin*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. choleraesuis*, *S. bredeney*, *S. reading* и *S. virchow* и др.

Методика применения Эшрифага на родительском стаде:



Выпойка

(однократно четная неделя):

- ❖ Микширование бактериофага при разбавлении водой;
- ❖ Выпойка бактериофагов (1 доза на 1 гол.) в течение двух часов через медикатор.



Аэрозольная обработка

(однократно нечетная неделя):

- ❖ Использование бактериофага (0,5 дозы на 1 гол) из расчета не менее 4,0 мл рабочего раствора на 1 куб. метр помещения;
- ❖ Экспозиция – 30 мин.

Применение Эшрифага на родительском поголовье

РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДО ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ С ДЕЙСТВУЮЩЕЙ НА ПРЕДПРИЯТИЕ СХЕМОЙ ЛПО

Вид пробы	Инцидентность до эксперимента (с 0 по 20 нед.)
Подстилочная бумага суточного реммолодняка	2 %
Степ-пробы	13 %
Помет	7%



ПТИЧНИК

Метод: выпойка
Возраст: однократно четная неделя

Дозировка: 1 доза на голову
Экспозиция: 2-3 часа



ПТИЧНИК

Метод: аэрозоль через САГ
Возраст: однократно нечетная неделя

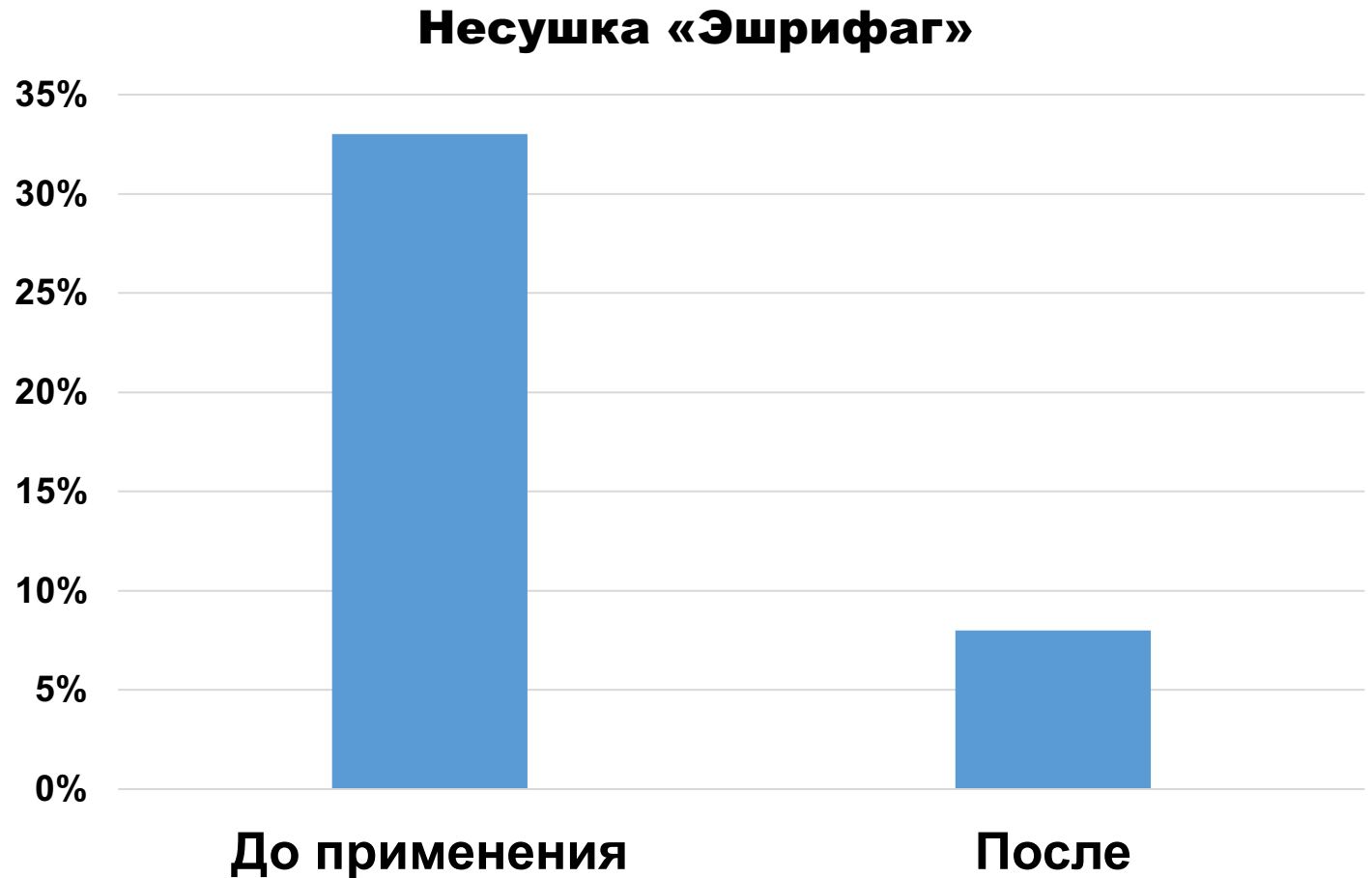
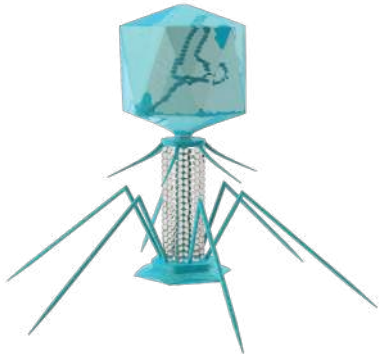
Дозировка: 0,5 доза на голову
Экспозиция: 30 минут

ВЫВОДЫ: РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

Вид пробы	Инцидентность после эксперимента (с 20 по 33 нед.)
Подстилочная бумага суточного реммолодняка	—
Степ-пробы	—
Помет	—
Корпусная пыль	—
Пат. материал	—
Клоакальные смывы	—
Инкубационные отходы	—

Результаты испытаний «Эшрифлаг» на промышленном стаде несушки (200 тыс.голов)

- ❖ На стаде промышленной несушки была выделена *Salmonella*
- ❖ После применения препарата в течении месяца!!!, один раз в неделю с чередованием выпойка/спрей, инцидентность снизилась с 33 до 8%



Результаты испытаний: 1. «площадка А» Московская область

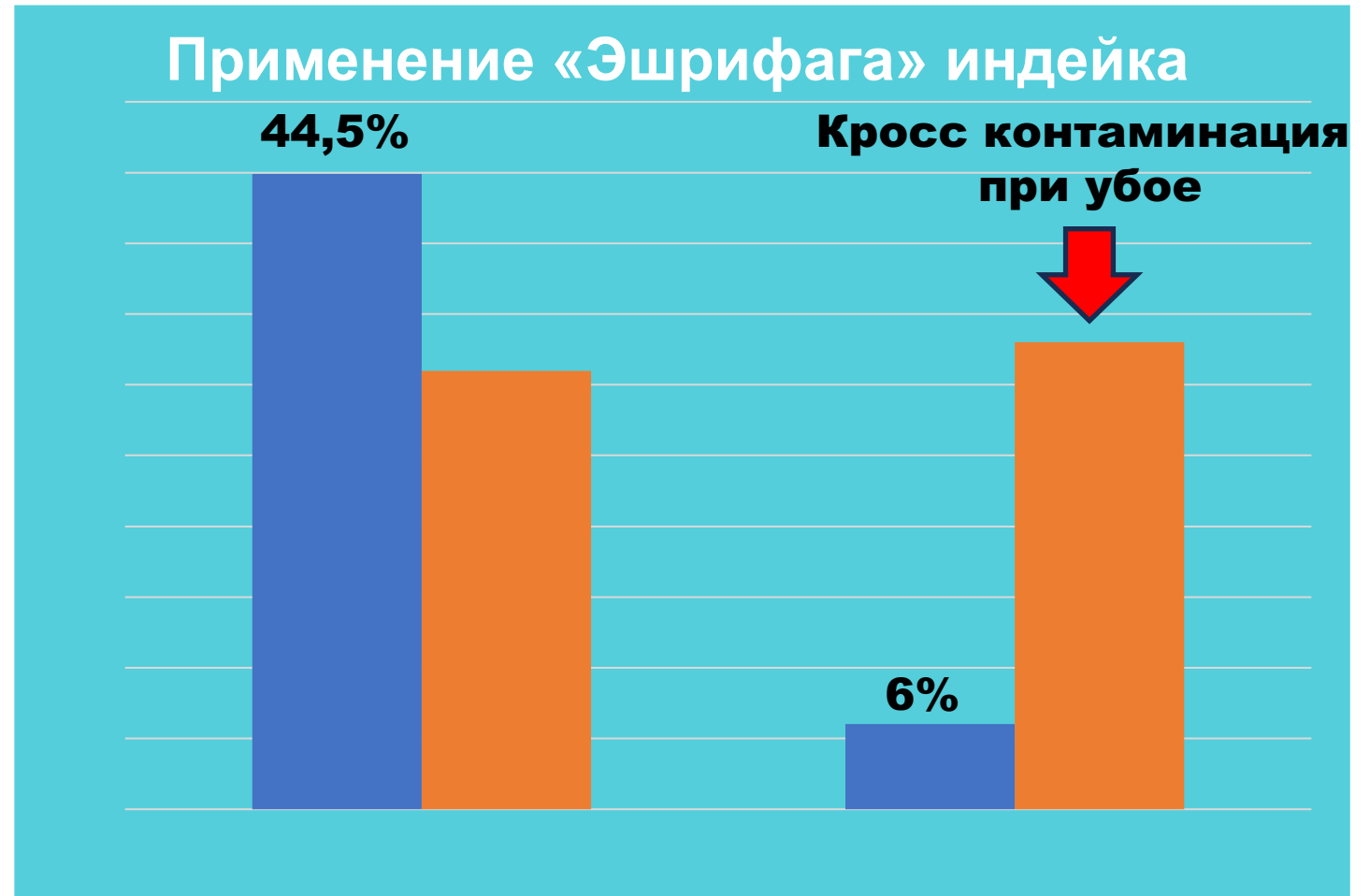
Пробы	Выделение до теста, %	Целевые показатели, %	n образцов	Выделение после теста, % по данным локальной лаборатории	Выделение после теста, % по данным НИЦ
Бахильные пробы	1,74%	0,87%	6	0,00%	0,00%
Фрагменты органов	6,25%	3,13%	96	0,00%	0,00%
Слепые отростки	0,00%	0,00%	60	0,00%	0,00%
Посев из мяса после охлаждения	14,44%	0,00%	6	16,70%*	0,00%*
Труп (эвтаназия)	0,00%	0,00%	5	0,00%	0,00%

*** Результат не подтвердился при исследовании парной пробы в НИЦ**

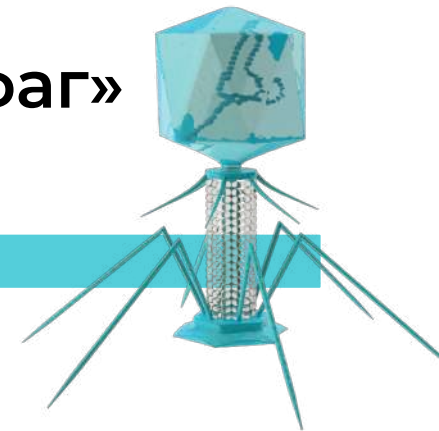
Препарат успешно отработал на всех изолятах, против которых подбирался коктейль.

Результаты испытаний промышленное стадо индейки (2 площадки/140 тыс.голов)

- ❖ По результатам применения препарата мы видим снижение выделения **Salm.** из филе тушки в **7,5** раз после первого тура.
- ❖ По печени снижения не произошло (**33%**), так как имеет место кросс контаминация при потрошении.
- ❖ **6%** выделений **Salm.** с филе мяса и **33%** из печени, это новые штаммы которые не были выделены в предварительном мониторинге, были занесены на площадку с кормами.
- ❖ Необходимы обработки препаратом Эшрифлаг цеха убоя и разделки



Декларируемые биодезинфектанты в ветеринарии «Листфаг» и «Биосальм»



Дезинфицирующее средство на основе бактериофагов, предназначенное для обработки объектов ветеринарного надзора и профилактики инфекционных болезней животных «Листфаг» (Listphage).

Состав: стерильный бесклеточный фильтрат фаголизата *Listeria monocytogenes* LM1 — 1%, на основе стерильного физиологического раствора — 99%. Титр бактериофага составляет не менее $1 \cdot 10^8$ БОЕ/мл (по Грациа).

Объем: 100 мл

№ серии: 000

Дата изготовления:

Способ применения и меры предосторожности изложены в инструкции по применению средства.

Область применения: дезинфекция объектов ветеринарного надзора, коммунальных объектов при инфекциях бактериальной этиологии вызванных *Listeria* spp.

Разработчик: ООО «ЦБО Микробиологии», 143026, Москва, Территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, 42, корпус 1. эл/пом/раб 0/157/5.

Производитель: ФГБНУ ФНЦ ВНИЗ РАН, 109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, к.1, ФБУН МНИИЗМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.

Хранить и транспортировать при температуре 2–8 °С. Допускается транспортирование и хранение при температуре от 9 до 25 °С не более месяца.

Срок годности: 12 месяцев. При помутнении не применять!

TU 20.20.14-002-01966727-2019



Дезинфицирующее средство на основе бактериофагов, предназначенное для обработки объектов ветеринарного надзора и профилактики инфекционных болезней животных «Био-Сальм» (Bio-Salm)

Состав: смесь стерильных бесклеточных фильтратов фаголизатов *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella infantis*, *Salmonella typhimurium* на основе стерильного физиологического раствора. Титр каждого бактериофага не менее $1 \cdot 10^{10}$ БОЕ/мл (по Грациа).

Объем: 100 мл

№ серии: 000

Дата изготовления: 20.11.2022

Способ применения и меры предосторожности изложены в инструкции по применению средства.

Область применения: дезинфекция объектов ветеринарного надзора, коммунальных объектов при инфекциях бактериальной этиологии вызванными *Escherichia coli* и *Salmonella* spp.

Разработчик: ООО «ЦБО Микробиологии», 143026, Москва, Территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, 42, корпус 1. эл/пом/раб 0/157/5.

Производитель: ФГБНУ ФНЦ ВНИЗ РАН, 109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, к.1, ФБУН МНИИЗМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.

Хранить и транспортировать при температуре 2–8 °С. Допускается транспортирование и хранение при температуре от 9 до 25 °С не более месяца.

Срок годности: 12 месяцев. При помутнении не применять!

TU 20.20.14-001-01966727-2019

Актуальность фаговой биодезинфекции для профилактики листериозов в ветеринарии на мясоперерабатывающих предприятиях

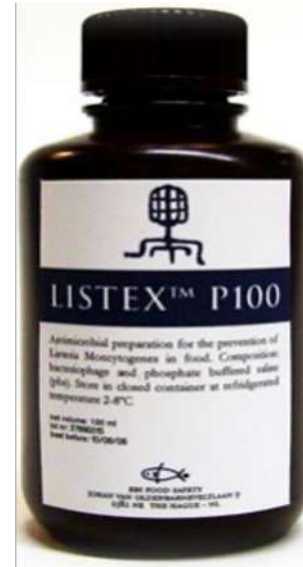
Инструмент контроля токсикоинфекций и снижения перекрестного заражения пищевых продуктов

Выживаемость некоторых штаммов *L. monocytogenes* в пищевой среде более 10 лет

Способность сублетально поврежденной *L. monocytogenes* восстанавливаться и расти во время постобработки и при хранении при низких температурах

Экологическая устойчивость *L. monocytogenes* к широкому спектру стрессовых состояний, в т.ч. биоцидам и ультрафиолетовому излучению

БИОПРОЦЕССИНГ - деконтаминация продукции и продление сроков ее ГОДНОСТИ



Результаты тестирования листфага на мясоперерабатывающем предприятии

Место отбора проб (участок мясоперерабатывающего предприятия)	До обработки	После обработки экспозиция 45 мин
Охлаждение и потрошение птицы 1	не обнаружено	не обнаружено
Упаковка 1	не обнаружено	не обнаружено
Обвалка и фаршеприготовление 1	не обнаружено	не обнаружено
Охлаждение и потрошение птицы 2	обнаружено	не обнаружено
Упаковка 2	не обнаружено	не обнаружено
Обвалка и фаршеприготовление 2	не обнаружено	не обнаружено

Влажная дезинфекция: концентрация 0,25%, при норме расхода 0,2 мл/кв.м., экспозиция 45 мин

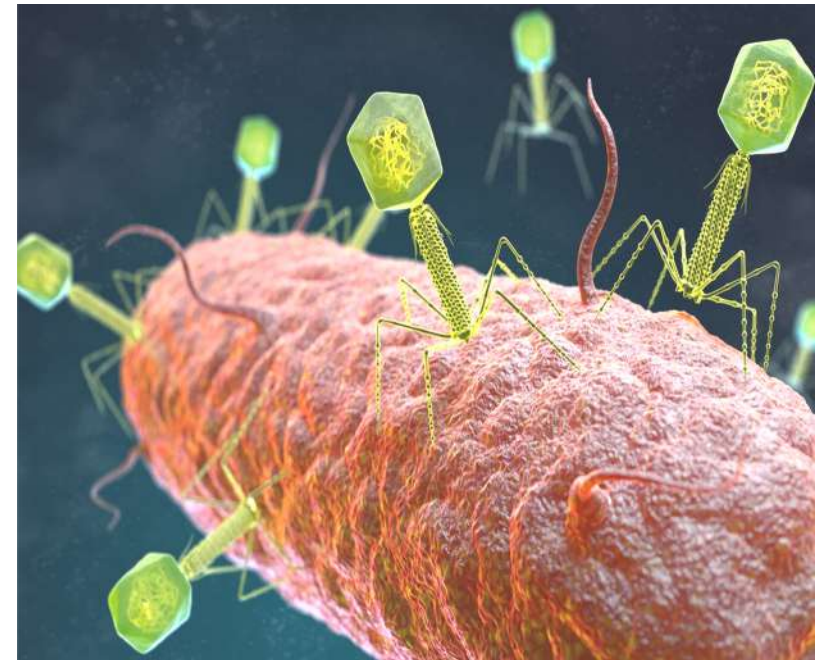
Мелкодисперсная обработка: концентрация 2,5%, при норме расхода 4 мл/куб.м., экспозиция 45 мин.

Деконтаминация Купат с помощью бактериофагов

Органолептические свойства	E.coli, КОЕ/0,0001г	Параметры ТР ТС 021/2011	
Свежее мясо	10 ²	1	1 сутки
	10 ²	2	
Свежее мясо	10 ³	1	2 сутки
	Роста не обнаружено	2	
Свежее мясо	10 ³	1	3 сутки
	Роста не обнаружено	2	
Свежее мясо	10 ⁴	1	4 сутки
	Роста не обнаружено	2	
Запах протухшего мяса	10 ⁴	1	5 сутки
Свежее мясо	Роста не обнаружено	2	
Запах протухшего мяса	10 ⁵	1	6 сутки
Свежее мясо	Роста не обнаружено	2	
Запах протухшего мяса, зеленоватый оттенок	1·10 ⁶	1	7 сутки
Свежее мясо	Роста не обнаружено	2	

1 – купата, не обработанная бактериофагом (из контрольной партии).

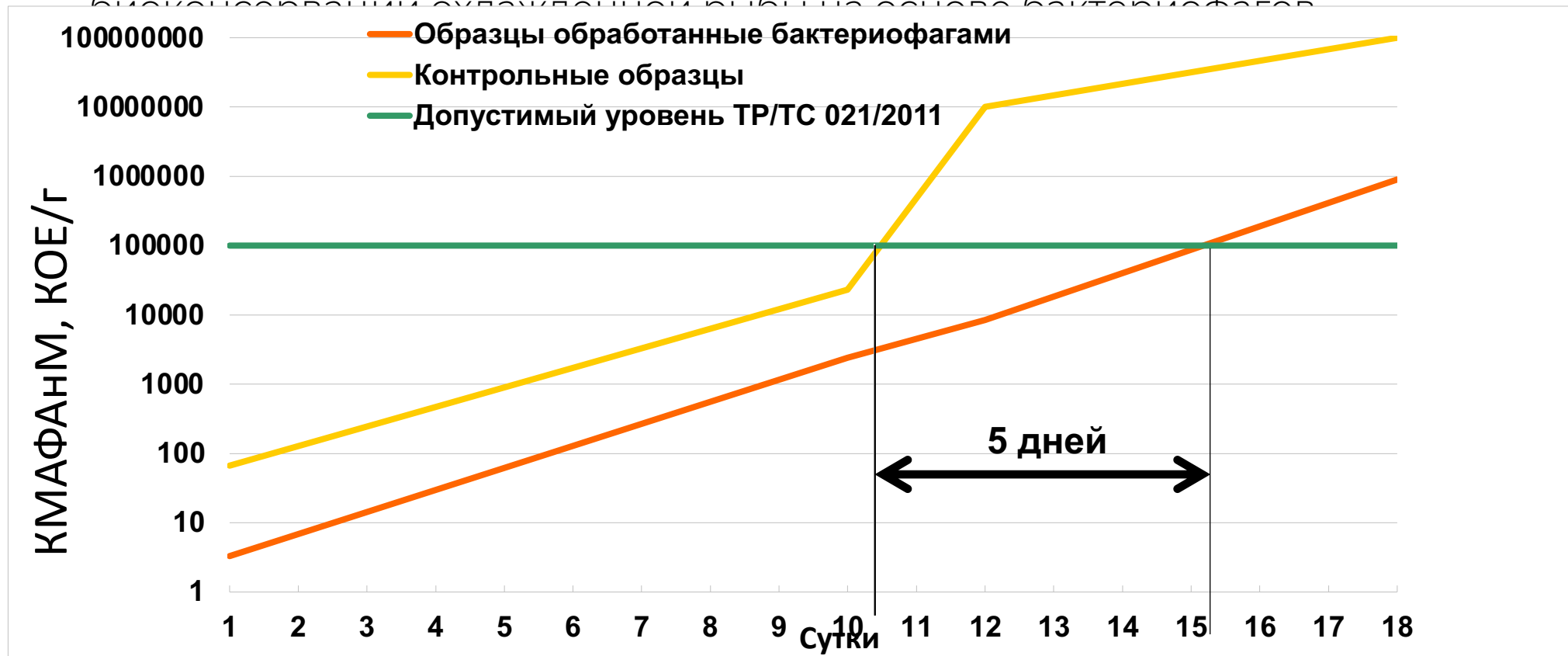
2 – купата, обработанная бактериофагом (из опытной партии).



Эволюция компании

2017 ЦБО Микробиологии - резидент «Сколково», консорциум медицинских и ветеринарных специалистов, работающий в области пищевой безопасности.

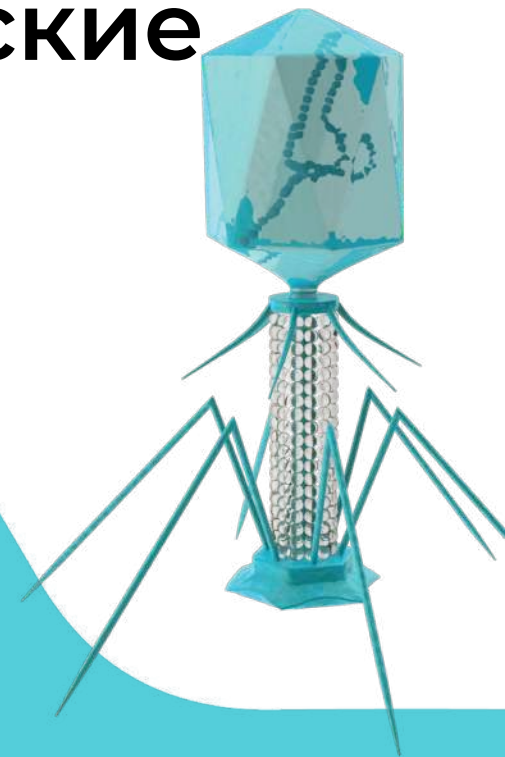
Выполнение гранта по созданию технического вспомогательного средства для биоконсервации охлажденной рыбы с помощью бактериофагов





Лечебно-профилактические препараты на основе бактериофагов

- ❖ Эшрифаг ЛС (коли-сальмонеллезный)
- ❖ Коли-дез ДС (АРЕС, ЕРЕС, ЕТЕС, ЕНЕС, STEC)
- ❖ Листфаг ДС (против *Listeria monocytogenes*)
- ❖ Стаф-дез ДС (*Staphylococcus spp.*)
- ❖ *Pseudomonas aeruginosa* и другие культуры

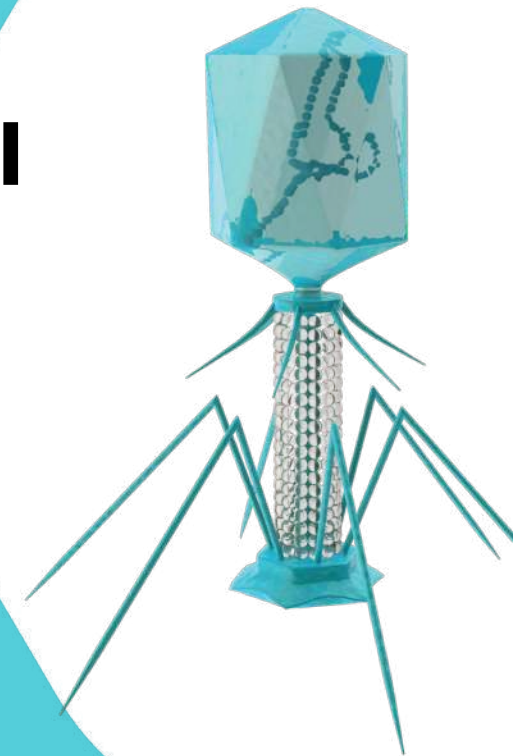


Перспективное решение:

- ❖ Точная диагностика бактериозов с подбором целевого состава
- ❖ Нарработка средства
- ❖ Лечебно-профилактические обработки в производственных отделах, селективная деконтаминация
- ❖ Обработка биодезинфектантом убойного цеха и инвентаря
- ❖ Дезобработка продуктов убоя
- ❖ Санитарный режим, санитарный контроль
- ❖ Микробиологический мониторинг



Принципы работы





Благодарим за внимание!

Наши контакты:

ООО «ЦБО Микроэкологии»

Тел: +7 499 112-01-04

email: info@evolink.bio

<https://evolink.bio/>

Наши Партнеры



**ФБУН МНИИ
Эпидемиологии и
Микробиологии
им. Габричевского
Роспотребнадзора**



**ФКП Армавирская
биофабрика**



**ФГБНУ ФНЦ
Всероссийский
институт
экспериментальной
ветеринарии РАН им.
К.И. Скрябина и
Я.Р. Коваленко**



**ФГБОУ ВО
Московская
государственная
академия
ветеринарной
медицины и
биотехнологии –
МВА имени К.И.
Скрябина**