

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190206** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.10.06

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

(22) Дата подачи заявки
2018.07.12

(54) **АНТИМИКРОБНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ПРОТИВ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ
ИНФЕКЦИЙ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **AP 2018 14772**

(32) **2018.05.02**

(33) **GE**

(86) **PCT/GE2018/000002**

(87) **WO 2019/211634 2019.11.07**

(71) Заявитель:
АО "БИОХИМФАРМ" (GE)

(72) Изобретатель:

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

(74) Представитель:

Пантюшина Е.Н. (RU)

(57) Антимикробная композиция содержит штаммы бактериофагов, чувствительные к *Shigella flexneri* - DSM 32619 и DSM 32620, штаммы бактериофагов, чувствительные к *Shigella sonnei* - DSM 32621 и DSM 32622, штамм бактериофага, чувствительный к *Salmonella choleraesuis* - DSM 32625, штамм бактериофага, чувствительный к *Salmonella newport* - DSM 32624, штамм бактериофага, чувствительный к *Salmonella paratyphi A* - DSM 32623, штамм бактериофага, чувствительный к *Salmonella typhimurium* - DSM 32626, штамм бактериофага, чувствительный к *Salmonella paratyphi B* - DSM 32627, штамм бактериофага, чувствительный к *Salmonella heidelberg* - DSM 32628, 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 *Staphylococcus aureus* - DSM 32631, DSM 32629, DSM 32630, штаммы бактериофагов, чувствительные к *Pseudomonas aeruginosa* - DSM 32616, DSM 32618, DSM 32617, штаммы бактериофагов, чувствительные к *Enterococcus* - DSM 32632 и DSM 32633 и не обязательно фармацевтически принимаемую добавку. При этом все вышеупомянутые бактериофаги депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

A1

202190206

202190206

A1

Антимикробная композиция, против гастроинтестинальных инфекций и ее применение

Сфера изобретения

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, биотехнологии, медицине, ветеринарии, охране окружающей среды и касается антимикробной композиции, против гастроинтестинальных инфекций, созданным на ее основании препаратам, входящим в состав композиции штаммам 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, яйца, 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 биологическими препаратами считаются строго специфические, имеющие способность целенаправленной элиминации патогенных и условно-

патогенных организмов, безвредные, безопасные, эффективные биопрепараты – бактериофаги, как одно из альтернативных средств антибиотиков.

Бактериофаги, или фаги представляют собой бактериальных вирусов, 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. Тбилисиб Гос. Университет; Крылов В.Н. (2001) Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага: надежды, перспективы, проблемы безопасности, 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 BertiaumeLauren., 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 препараты монокомпонентной дизентерии, поликомпонентных интести и пио бактериофагов 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 инфекций. (Wei H., Bacteriophages, revitalized after 100 years in the shadow of antibiotics. *Virol Sin.*, 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 час. 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 час.) впитываются 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 фагосенсибильностью 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, применяемые на начальной стадии заболевания в случае положительной фагосенсибильности бактериального патогена улучшают состояние пациента на 64% спустя 24 часа и на 93-95% спустя 48 часов.

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 (Крылов 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 сальмонелозных фагов изготовленных различными способами, Бактериофаги, Теорические 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., Vorris 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, сепрации 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-O29 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 microorganizms, 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 microorganizms, 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 *Serratia marcescens* 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 *Serratia marcescens* and *Enterobacter aerogenes*, 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 множественных 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: Orynassarova 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; Orynassarova 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 вирулентные заболевания.

Суть изобретения

Одним аспектом осуществления изобретения является антимикробная композиция, противодействующая гастроинтестинальным инфекциям, которая содержит:

а) чувствительные к *Shigella flexneri* штаммы бактериофагов: DSM 32619 и DSM 32620, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

б) чувствительные к *Shigella sonnei* штаммы бактериофагов: DSM 32621 и DSM 32622, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

в) чувствительный к *Salmonella cholerasuis* штамм бактериофага DSM 32625, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

г) чувствительный к *Salmonella newport* штамм бактериофага DSM 32624, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

д) чувствительный к *Salmonella paratyphi* А штамм бактериофага DSM 32623, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

е) чувствительный к *Salmonella typhimurium* штамм бактериофага DSM 32626, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

- ё) чувствительный к *Salmonella paratyphi* В штамм бактериофага DSM 32627, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- ж) чувствительный к *Salmonella heidelberg* штамм бактериофага DSM 32628, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- з) чувствительные к *Escherichia coli* штаммы бактериофагов: DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- и) чувствительные к *Proteus vulgaris* штаммы бактериофагов: DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- к) чувствительные к *Staphylococcus aureus* штаммы бактериофагов: DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- л) чувствительные к *Pseudomonas aeruginosa* штаммы бактериофагов: DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- м) чувствительные к *Enterococcus* штаммы бактериофагов: DSM 32632 и DSM 32633, 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 кишечных инфекций.

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

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

Указанную выше композицию еще по одному аспекту осуществления изобретения применяют для лечения и/или профилактики у людей дизентерии (шигеллёз), сальмонеллеза, эшерихиоза (коли инфекции), диспепсии, дисбактериоза, пищевой токсикоинфекции, энтерита, гастроэнтерита, колита, энтероколита и гастроэнтероколита.

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

Еще один аспект осуществления изобретения входящие в состав вышеуказанной композиции, имеющие противодействующую активность к *Shigella flexneri* штаммы изолированного бактериофага, отобранные из групп DSM 32619 и DSM 32620. 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 *Shigella sonnei* штаммы изолированного бактериофага, отобранные из групп DSM 32621 и DSM 32622. Все указанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящий в состав вышеуказанной композиции, имеющий противодействующую активность к *Salmonella cholerasuis* штамм изолированного бактериофага DSM 32625,

депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящий в состав вышеуказанной композиции, имеющий противодействующую активность к *Salmonella newport* штамм изолированного бактериофага DSM 32624, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящий в состав вышеуказанной композиции, имеющий противодействующую активность к *Salmonella paratyphi A* штамм изолированного бактериофага DSM 32623, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящий в состав вышеуказанной композиции, имеющий противодействующую активность к *Salmonella typhimurium* штамм изолированного бактериофага DSM 32626, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящий в состав вышеуказанной композиции, имеющий противодействующую активность к *Salmonella paratyphi B* штамм изолированного бактериофага DSM 32627, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящий в состав вышеуказанной композиции, имеющий противодействующую активность к *Salmonella heidelberg* штамм изолированного бактериофага DSM 32628, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Еще один аспект осуществления изобретения входящие в состав вышеуказанной композиции, имеющие противодействующую активность к *Enterococcus* штаммы изолированного бактериофага, отобранные из групп DSM 32632 и DSM 32633. Все указанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Описание фигур

На фиг.1 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32619;

На фиг.2 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32620;

На фиг.3 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32621;

На фиг.4 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32622;

На фиг.5 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32625;

На фиг.6 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32624;

На фиг.7 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32623;

На фиг.8 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32626;

На фиг.9 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32627;

На фиг.10 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32628;

На фиг.11 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32612;

На фиг.12 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32611;

На фиг.13 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32610;

На фиг.14 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32613;

На фиг.15 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32614;

На фиг.16 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32615;

На фиг.17 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32631;

На фиг.18 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32629;

На фиг.19 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32630;

На фиг.20 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32616;

На фиг.21 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32618;

На фиг.22 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32617;

На фиг.23 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32632;

На фиг.24 показано электронно-микроскопическое изображение DSM 32633;

На фиг.25 изображены профили полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP) DSM 32619, DSM 32620, DSM 32621 и DSM 32622 при использовании фермента *Afl* II.

На фиг.26 изображены профили полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP) DSM 32624, DSM 32625, DSM 32627 и DSM 32623 при использовании фермента *Hind* III.

На фиг.27 изображены профили полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP) DSM 32626 и DSM 32628 при использовании фермента *Spe* I.

На фиг.28 изображен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP) DSM 32627 при использовании фермента *Spe* I.

На фиг.29 изображены профили RFLP DSM 32612, DSM 32610 и DSM 32611 при использовании ферментов *EcoR* V и *Afl* II.

На фиг.30 изображены профили RFLP DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615 при использовании фермента *Hind* III.

На фиг.31 изображены профили RFLP DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615 при использовании фермента *Afl* II.

На фиг.32 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.33 изображен профиль RFLP DSM 32616 при использовании фермента *Hind*III.

На фиг.34 изображены профили RFLP DSM 32618 и DSM 32617 при использовании ферментов *EcoR* V и *Hind*III.

На фиг.35 изображены профили RFLP DSM 32632 и DSM 32633 при использовании фермента *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 *Shigella flexneri* штаммы бактериофагов: DSM 32619 и DSM 32620, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- б) чувствительные к *Shigella sonnei* штаммы бактериофагов: DSM 32621 и DSM 32622, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- в) чувствительный к *Salmonella cholerasuis* штамм бактериофага DSM 32625, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- г) чувствительный к *Salmonella newport* штамм бактериофага DSM 32624, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- д) чувствительный к *Salmonella paratyphi* А штамм бактериофага DSM 32623, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- е) чувствительный к *Salmonella typhimurium* штамм бактериофага DSM 32626, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

- ё) чувствительный к *Salmonella paratyphi* В штамм бактериофага DSM 32627, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- ж) чувствительный к *Salmonella heidelberg* штамм бактериофага DSM 32628, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- з) чувствительные к *Escherichia coli* штаммы бактериофагов: DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- и) чувствительные к *Proteus vulgaris* штаммы бактериофагов: DSM 32613, DSM 32614 и DSM 32615, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- к) чувствительные к *Staphylococcus aureus* штаммы бактериофагов: DSM 32631, DSM 32629 и DSM 32630, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- л) чувствительные к *Pseudomonas aeruginosa* штаммы бактериофагов: DSM 32616, DSM 32618 и DSM 32617, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),
- м) чувствительные к *Enterococcus* штаммы бактериофагов: DSM 32632 и DSM 32633, 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 90% инфекций кишечника вызваны патогенными и условно-патогенными бактериями:

Salmonella, *Shigella*, *E.coli*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*.

Shigella flexneri и *Shigella sonnei* вызывают шигеллез. Шигеллез занимает значительное место среди острых кишечных инфекций. В мире ежегодно регистрируется 165 миллионов случаев, из которых 600.000 случаев заканчивается смертью. 75-80 % заболеваемости приходится на детей. Чаще заболевают дети в возрасте от 1 года до 6 лет. Среди малолетних, у которых наблюдается тяжелая форма дизентерии, может развиваться нефрит, токсично-инфекционный и гиповолемический шок, выпадение прямой кишки, кровотечение, инвагинация, перитонит. Может сформироваться бронхопневмония, стоматит, пиодермия, фурункулез, остеомиелит, инфекции мочевых путей, гемолизно-уремический синдром с острой недостаточностью почки, негнойный артрит и синдром Рейтера; вызванная шигеллами бактериемия в 50% случаев заканчивается летально.

Вызванные сальмонелами основные заболевания условно можно разделить на три группы: брюшной тиф и паратифы, гастроэнтериты и септицемии.

Тифопаратифозные заболевания - (брюшной тиф, паратифы А и В) – группы острых инфекционных заболеваний, вызываемые - *Salmonella typhi*, *Salmonella Paratyphi A*, *Salmonella schottmulleri*. Эти заболевания характеризуются лихорадкой, общей интоксикацией, бактериемией, увеличением печени и селезенки, энтеритом и своеобразным поражением лимфатического аппарата желудка и кишечника. Сальмонеллы при разложении выделяют эндотоксины, которые обуславливают симптомы

общей интоксикации и играют важную роль при генезе язв тонкой кишки и лейкопении, могут обусловить и развитие инфекционно-токсического шока.

Сальмонеллез – острое инфекционное заболевание, вызванное сальмонеллами, характеризующееся разнообразными клиническими проявлениями, от бессимптомного ношения до тяжелых септических форм. Протекает преимущественно с поражением органов пищеварения (гастроэнтерит, колиты). В детях сальмонеллез в основном вызывают *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. anatum*, *S. Heidelberg* и др. Особенно остро протекает септическая форма сальмонеллеза. Заболевание плохо подчиняется антибиотикотерапии. Вторичные очаги часто развиваются в опорно-двигательном аппарате (остеомиелиты, артриты, спондилиты). Иногда отмечается септический сальмонеллезный эндокардит, аортит, с последующим развитием аневризмы аорты, гнойные менингиты, редко абсцесс печени, гнойный струмит, инфицированная киста яичника. При тяжелых формах может развиваться обезвоживание, инфекционно-токсичный шок. Ежегодно в США случаи пищевой токсикоинфекции, вызванной сальмонеллезом, достигают одного миллиона, из которых показатель госпитализации 19000, а смертности – 380.

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.

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, сальпингоофорит, *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.

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.

Энтерококки (*Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*) вызывают энтериты, колиты, инфекции мочеполовой системы, эндокардиты, бактериемию-септицемию, неонатальный сепсис. Большинство энтерококковых инфекций носят нозокомиальный характер. Резистентный к ванкомицину *Enterococcus faecium* составляет 80% штаммов, выделенных в клинике.

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 превенции заболеваний, вызванных микробными ассоциациями. Необходимо отметить, что различные виды бактериофаг, 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 32619	2×10^{10}	1×10^{11}
DSM 32620	2×10^{10}	2×10^{11}
DSM 32621	3×10^{10}	4×10^{11}
DSM 32622	5×10^9	1×10^{11}
DSM 32625	3×10^{10}	2×10^{11}
DSM 32624	1×10^{10}	3×10^{11}
DSM 32623	1×10^9	4×10^{10}
DSM 32626	3×10^8	1×10^{10}
DSM 32627	4×10^9	3×10^{11}
DSM 32628	2×10^{10}	4×10^{11}
DSM 32612	1×10^{10}	3×10^{11}
DSM 32611	2×10^9	1×10^{11}
DSM 32613	1×10^9	4×10^{10}
DSM 32614	6×10^8	1×10^{11}
DSM 32615	2×10^9	1×10^{11}
DSM 32610	4×10^{10}	4×10^{11}
DSM 32631	3×10^{10}	3×10^{11}

DSM 32629	1×10^{10}	4×10^{11}
DSM 32630	5×10^{10}	2×10^{11}
DSM 32616	4×10^{10}	5×10^{11}
DSM 32618	1×10^{10}	1×10^{11}
DSM 32617	2×10^9	2×10^{11}
DSM 32632	1×10^9	1×10^{11}
DSM 32633	3×10^8	5×10^{10}

По изобретению композиция содержит бектериофагов 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 лиофилизированного 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 супозитории. 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 посевоинфицирования. 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 *Shigella flexneri* штаммы бактериофагов: DSM 32619 и DSM 32620, 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 посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час.

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32619 и DSM 32620. 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 фигурах 1-2 показаны электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32619 и DSM 32620, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Afl* II.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фигуре 25.

В состав композиции входят чувствительные к *Shigella sonnei* штаммы бактериофагов: DSM 32621 и DSM 32622, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения вышеуказанных фагов: рН - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования

была изучена морфология бактериофагов - DSM 32621 и DSM 32622. 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 таблице 2 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигурах 3-4 показаны электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32621 и DSM 32622, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Afl* II.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фигуре 25.

В состав композиции входит чувствительный к *Salmonella choleraesuis* штамм бактериофагов DSM 32625, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

Оптимальные условия размножения вышеуказанных фагов: pH - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний бактериофагов этого штамма, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32625. 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 таблице 3 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигуре 5 показано электронно-микроскопическое изображение вышеуказанного фага.

Также был изучен геном бактериофага - DSM 32625, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Hind* III.

RFLP профиль вышеуказанного бактериофага изображен на фигуре 26.

В состав композиции входит чувствительный к *Salmonella newport* штамм бактериофагов DSM 32624, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: рН - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний бактериофагов этого штамма, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32624. 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 таблице 3 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигуре 6 показано электронно-микроскопическое изображение вышеуказанного фага.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32624, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Hind* III.

RFLP профиль вышеуказанного бактериофага изображен на фигуре 26.

В состав композиции входит чувствительный к *Salmonella paratyphi* A штамм бактериофагов DSM 32623, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: pH - 7-7,4; температура - 30-37⁰C; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний бактериофагов этого штамма, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32623. 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 - K.

Данные вышеуказанных исследований приведены в таблице 4 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигуре 7 показано электронно-микроскопическое изображение вышеуказанного фага.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32623, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP).

Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Hind III*.

RFLP профиль вышеуказанного бактериофага изображен на фигуре 26.

В состав композиции входит чувствительный к *Salmonella typhimurium* штамм бактериофагов DSM 32626, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: pH - 7-7,4; температура - 30-37⁰C; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний бактериофагов этого штамма, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32626. 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 - K.

Данные указанных исследований приведены в таблице 4 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигуре 8 показано электронно-микроскопическое изображение вышеуказанного фага.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32626, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Spe I*.

RFLP профиль вышеуказанного бактериофага изображен на фигуре 27.

В состав композиции входит чувствительный к *Salmonella paratyphi* В штамм бактериофага DSM 32627, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур DSMZ).

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: рН - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний бактериофагов этого штамма, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32627. 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 таблице 5 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигуре 9 показано электронно-микроскопическое изображение вышеуказанного фага.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32627, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Spe I*.

RFLP профиль вышеуказанного бактериофага изображен на фигуре 28.

В состав композиции входит чувствительный к *Salmonella heidelberg* штамм бактериофага DSM 32628, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: рН - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний бактериофагов этого штамма, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32628. 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 таблице 5 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигуре 10 показано электронно-микроскопическое изображение вышеуказанного фага.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32628, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Spe I*.

RFLP профиль вышеуказанного бактериофага изображен на фигуре 27.

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

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: рН - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

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 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 таблице 6 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигурах 11-13 показаны электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32612, DSM 32611 и DSM 32610, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционные ферменты – *EcoR V* и *Afl II*.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображен на фигуре 29.

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 фагов вышеуказанного штамма: pH - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда : бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

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 бактериофагов на клетку-хозяина в течение малого (5 мин.) времени и константа адсорбции - К.

Данные указанных исследований приведены в таблице 7 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигурах 14-16 показаны 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 был использован рестрикционные ферменты – *Hind* III и *Afl* II.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фигурах 30-31.

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 фагов вышеуказанного штамма: pH - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

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 указанных исследований приведены в таблице 8 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигурах 17-19 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 рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционные ферменты – *EcoR* I, *EcoR* V, *Hind* III, *Spe* I, *Afl* II.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фигурах 32.

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

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: pH - 7-7,4; температура - 30-37⁰C; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

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 - K.

Данные указанных исследований приведены в таблице 9 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О. «Биохимфарм»), а на фигурах 20-22 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 был использован рестрикционные ферменты – *EcoR V* и *Hind III*.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фигурах 33-34.

В состав композиции входят чувствительные к *Enterococcus* штаммы бактериофагов: DSM 32632 и DSM 32633, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

Оптимальные условия размножения фагов вышеуказанного штамма: рН - 7-7,4; температура - 30-37⁰С; питательная среда: бульон гидролизата рыбной муки или соевый бульон; множественность посево-инфицирования - 0,2; время культивирования- 15–18 час..

Была определена морфология негативных колоний этих бактериофагов, лизисная активность. Путем электронно-микроскопического исследования была изучена морфология бактериофагов - DSM 32632 и DSM 32633. 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 таблице 10 (в таблице указаны бактериальные штаммы из коллекции, имеющейся на базе А.О.

«Биохимфарм»), а на фигурах 23-24 показаны электронно-микроскопические изображения вышеуказанных фагов.

Также был изучен геном бактериофагов - DSM 32632 и DSM 32633, в частности, был определен профиль полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Для определения профиля RFLP был использован рестрикционный фермент – *Hind* III.

RFLP профили вышеуказанных бактериофагов изображены на фигурах 35.

Также была изучена лизисная активность 24-х штаммов бактериофагов *in vitro*, входящих в состав композиции. В частности, была изучена лизисная активность бактериофагов в отношении 306 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 11. Как видно из таблицы, *in vitro* эффективность – диапазон лизисного действия бактериофагов, входящих в состав композиции, на гомологические бактерии следующий: *Shigella* (65 штаммов) – 78-89%; *Salmonella* (57 штаммов) – 74-88%; *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%; *Enterococcus* (67 штаммов) – 91-92,5%. Анализ скрининга показал, что имеющиеся в составе композиции 24 бактериофага по диапазону лизисного действия перекроют друг-друга, соответственно, *in vitro* эффективность – диапазон лизисного действия бактериофагов, входящих в состав композиции в отношении 306 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 *Enterococcus* - 95%; на штаммы *Salmonella* - 76%; на штаммы *Shigella* - 100%.

Использование композиции для лечения и профилактики

Композиция используется для лечения и профилактики.

Показания применения композиции в лечебных целях следующие: дизентерия (шигеллёз), сальмонеллез, эшерихиоз (коли инфекции), диспепсия, дисбактериоз, пищевые токсикоинфекции, энтерит, гастроэнтерит, колит, энтероколит и гастроэнтероколит.

В целях профилактики применение композиции целесообразно во время эпидемий кишечных инфекций: в учреждениях питания, местах массового скопления, закрытых коллективах (детские сады, школы, стационары и др.), армейских формированиях (в полевых условиях и во время боевых действий), во время стихийных бедствий.

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.

Также была изучена лечебная эффективность композиции *in vivo*. После проведения курса фаготерапии (5-7 дней), в детях с кишечными инфекциями легкой формы и средней тяжести была достигнута полная элиминация патогенных, а также условно патогенных микробов: гемолитической *E.coli* (в 100%-ах исследованных), *S.aureus* (в 87%-ах), в случае *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* и *Serratia* имела место частичная ирадикация. Необходимо отметить, что у 50% пациентов, кому не была проведена антимикозная терапия, отмечалась элиминация кандиды.

Проведенное композицией клиническое исследование (50 пациентов с диагнозом: острая кишечная бактериальная инфекция средней тяжести, этиологические факторы: *S.enteritidis*, *S.typhimurium*, *S.flexner*), в 95% пациентов выявило существенное улучшение состояния (уменьшение интоксикации, боли в животе, безаппетитности, общей слабости, интенсивности и частоты диареи) в течение 48 часов с начала лечения. После окончания монотерапии композицией (3-5 дней) было отмечено клинико-лабораторно подтвержденное полное выздоровление пациентов.

Кроме этого было проведено сравнение эффективности композиции с эффективностью антибиотиков, секстафага (RU2410084 (FEDERAL NOE GUP NPOB MED IMMUNOBIOLOGICHESKIM PREPARATAM MIKROGEN MIN ZDRAVOOKHRANENIJA RF) 27.01.2011) и пиофага (RU2036232 (UFIM NII VAKTSIN I SYVOROTOK) 27.05.1995). Эффективность бактериофагов,

входящих в состав композиции, при 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 *Enterococcus* - 95%, на штаммах *Salmonella* - 76%, на штаммах *Shigella* - 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%. 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.

Формула изобретения

1. Антимикробная композиция характеризуется тем, что содержит:

а) чувствительные к *Shigella flexneri* штаммы бактериофагов: DSM 32619 и DSM 32620, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

б) чувствительные к *Shigella sonnei* штаммы бактериофагов: DSM 32621 и DSM 32622, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

в) чувствительный к *Salmonella choleraesuis* штамм бактериофага DSM 32625, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

г) чувствительный к *Salmonella newport* штамм бактериофага DSM 32624, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

д) чувствительный к *Salmonella paratyphi* А штамм бактериофага DSM 32623, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

е) чувствительный к *Salmonella typhimurium* штамм бактериофага DSM 32626, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

ё) чувствительный к *Salmonella paratyphi* В штамм бактериофага DSM 32627, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

ж) чувствительный к *Salmonella heidelberg* штамм бактериофага DSM 32628, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ),

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

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

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

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

м) чувствительные к *Enterococcus* штаммы бактериофагов: DSM 32632 и DSM 32633, депонированные в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ) и не обязательно фармацевтически принимаемую добавку.

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

3. Применение композиции по п.п. 1-2 для лечения и/или профилактики кишечных инфекций.

4. Применение по п.3 для лечения и/или профилактики кишечных инфекций у людей.

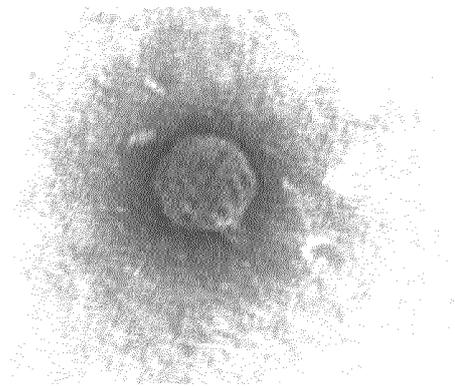
5. Применение по п.3 для лечения и/или профилактики кишечных инфекций среди животных и птиц.

6. Применение по п.п. 3-4, где кишечные инфекции избраны из следующей группы: дизентерия (шигеллёз), сальмонеллез, эшерихиоз (коли инфекции), диспепсия, дисбактериоз, пищевые токсикоинфекции, энтерит, гастроэнтерит, колит, энтероколит и гастроэнтероколит.

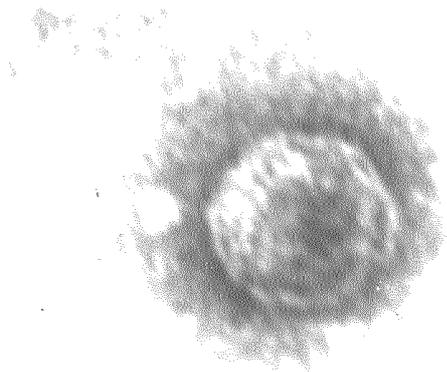
7. Применение по п.3, где профилактика охватывает обработку агрикультур, аквакультур, пищевых продуктов, санацию окружающей среды.
8. Имеющий противодействующую активность к *Shigella flexneri* штамм изолированного бактериофага, характеризующийся тем, что он избран из следующей группы: DSM 32619 и DSM 32620, при этом, вышеуказанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).
9. Имеющий противодействующую активность к *Shigella sonnei* штамм изолированного бактериофага, характеризующийся тем, что он избран из следующей группы: DSM 32621 и DSM 32622, при этом, вышеуказанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).
10. Имеющий противодействующую активность к *Salmonella cholerasuis* штамм изолированного бактериофага DSM 32625, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).
11. Имеющий противодействующую активность к *Salmonella newport* штамм изолированного бактериофага DSM 32624, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).
12. Имеющий противодействующую активность к *Salmonella paratyphi A*, штамм изолированного бактериофага DSM 32623, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).
13. Имеющий противодействующую активность к *Salmonella typhimurium* штамм изолированного бактериофага DSM 32626, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).
14. Имеющий противодействующую активность к *Salmonella paratyphi B* штамм изолированного бактериофага DSM 32627, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

15. Имеющий противодействующую активность к *Salmonella heidelberg* штамм изолированного бактериофага DSM 32628, депонированный в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).

16. Имеющий противодействующую активность к *Enterococcus* штамм изолированного бактериофага, характеризующийся тем, что он избран из следующей группы: DSM 32632 и DSM 32633, при этом, вышеуказанные штаммы депонированы в немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ).



фиг.1



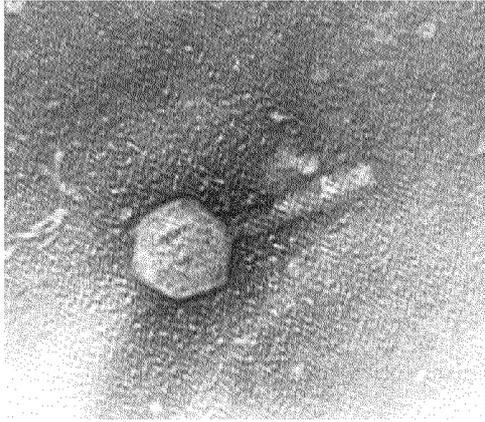
фиг.2



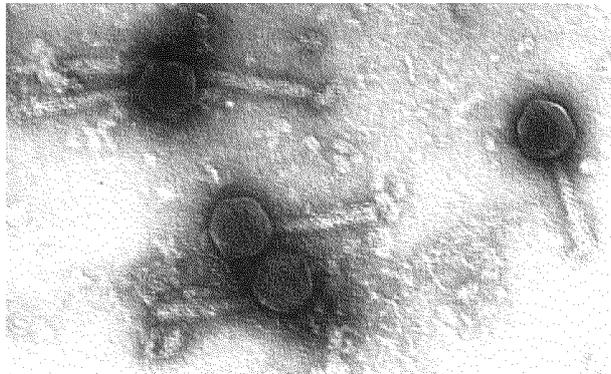
фиг.3



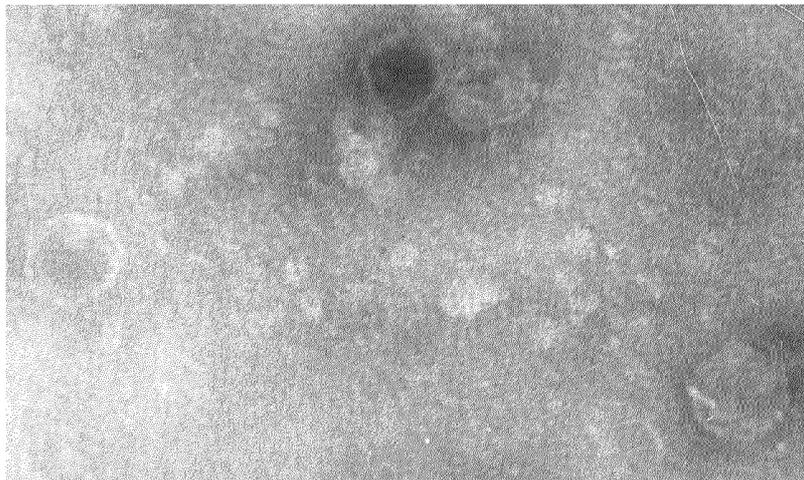
фиг.4



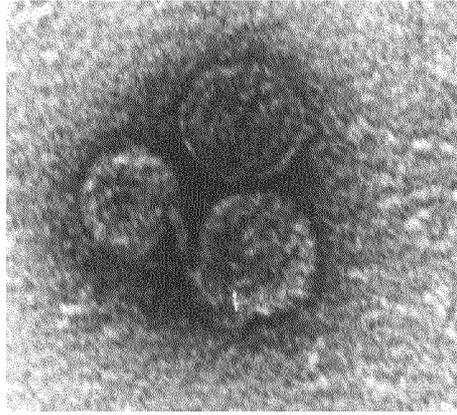
фиг.5



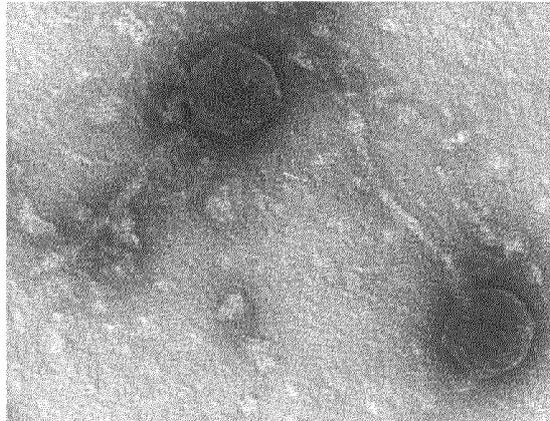
фиг.6



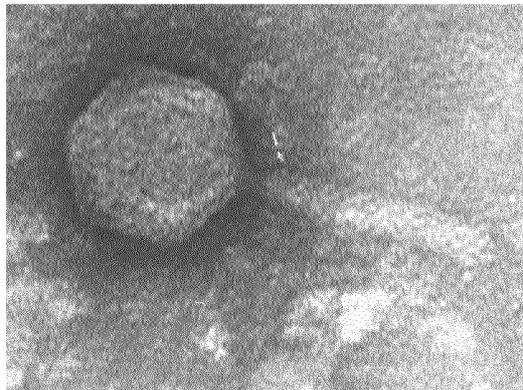
фиг.7



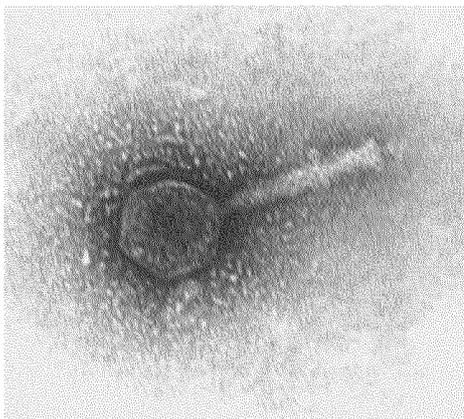
фиг.8



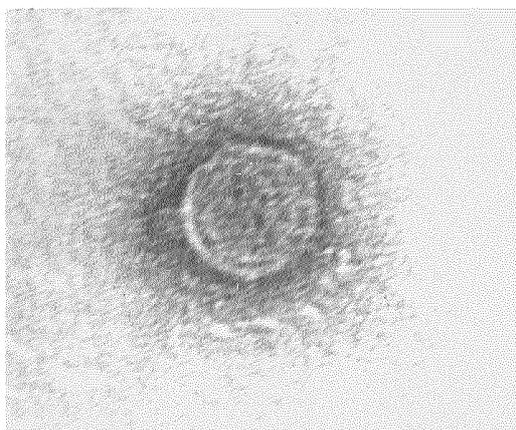
фиг.9



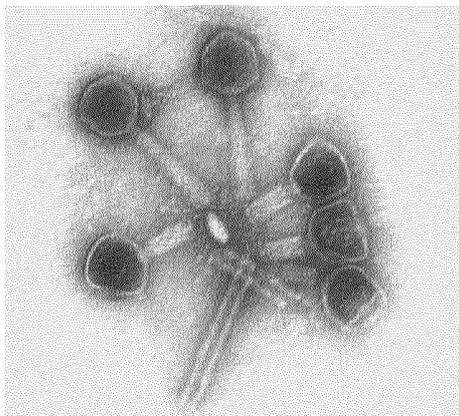
фиг.10



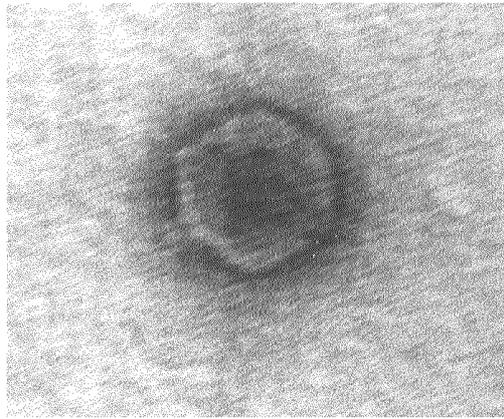
фиг.11



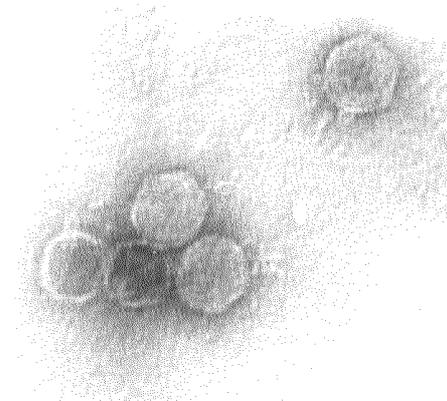
фиг.12



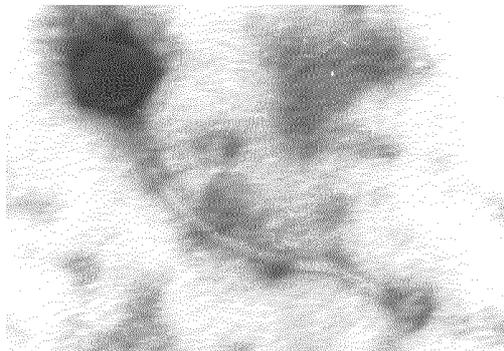
фиг.13



фиг.14



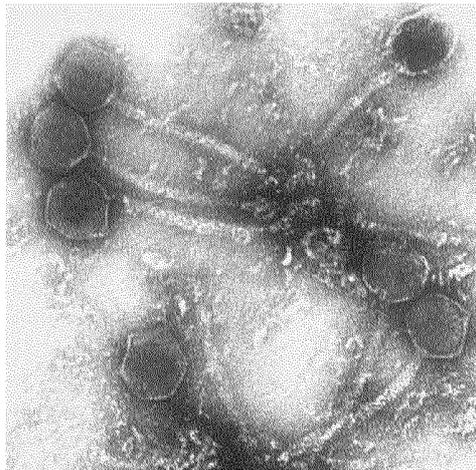
фиг.15



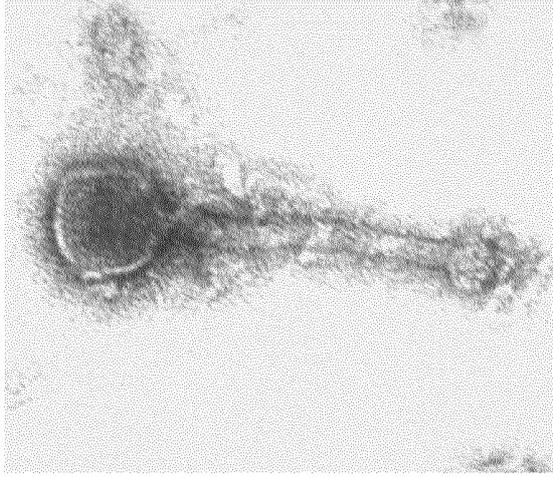
фиг.16



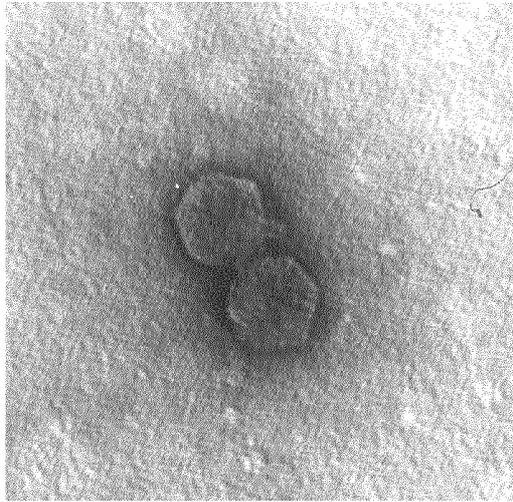
фиг.17



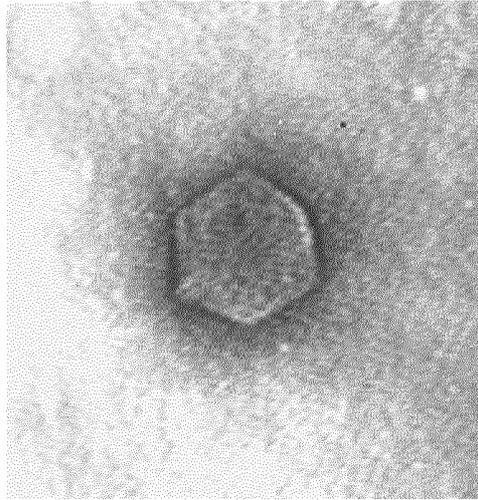
фиг.18



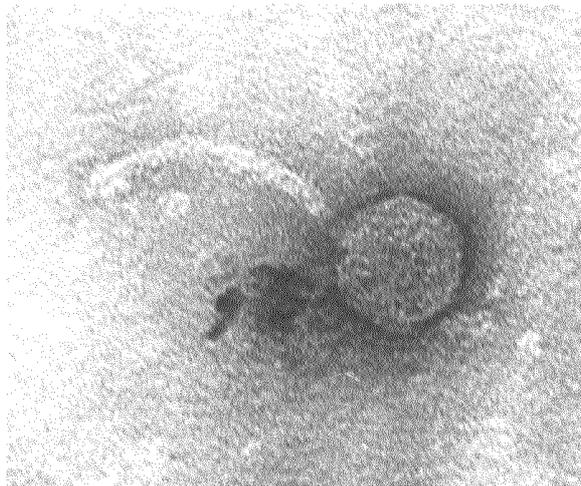
фиг.19



фиг.20



фиг.21



фиг.22



фиг.23



фиг.24

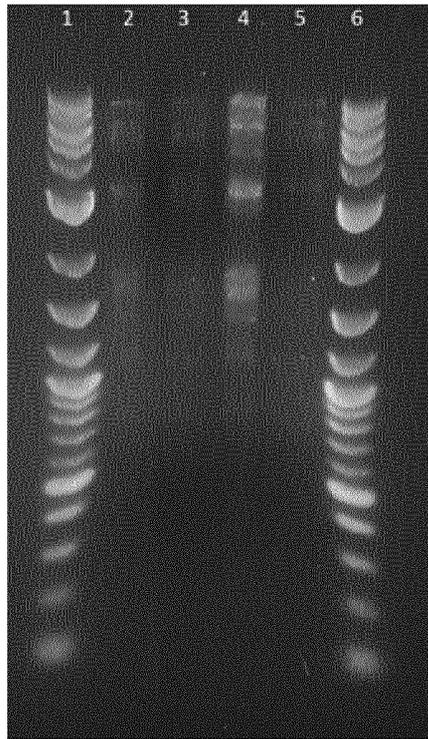
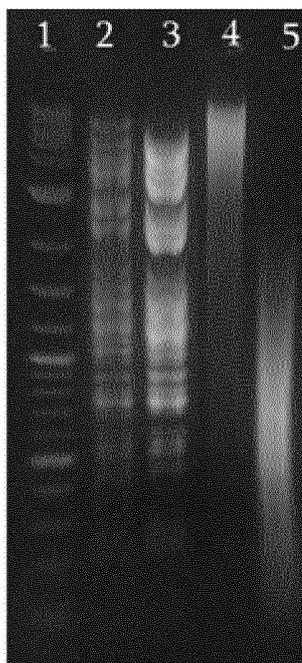


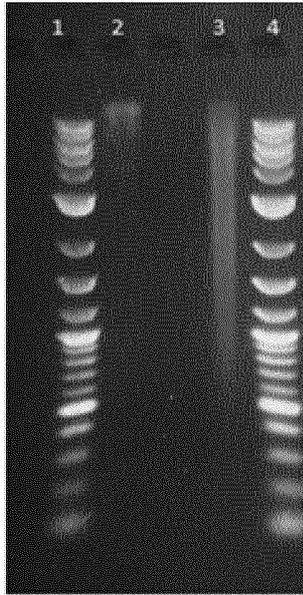
фото. Рестриктивный анализ:
1 - Маркер ДНК, **2** - DSM 32619
+ AfIII, **3** - DSM 32620 + AfIII, **4** -
DSM 32621 + AfIII, **5** - DSM 32622 +
AfIII, **6** - Маркер ДНК

фиг.25



1 - Маркер ДНК, **2** - DSM 32624 + HindIII,
3 - DSM 32625 + HindIII, **4** - DSM 32627 + HindIII,
5 - DSM 32623 + HindIII

фиг.26



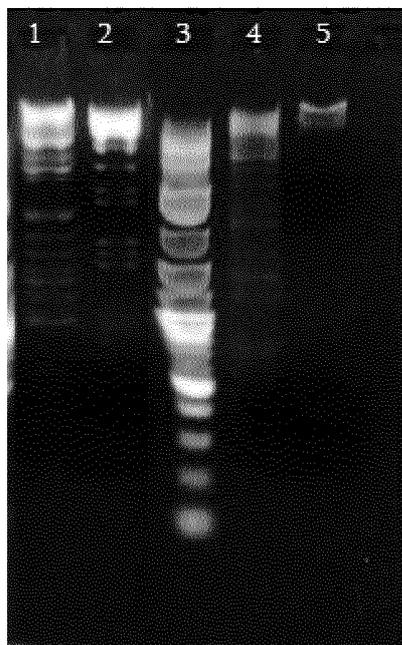
1 - DSM 32626 + SpeI
2 - DSM 32628 + SpeI
3 - Маркер ДНК

фиг.27



1 - DSM 32627 + SpeI
2 - Маркер ДНК

фиг.28



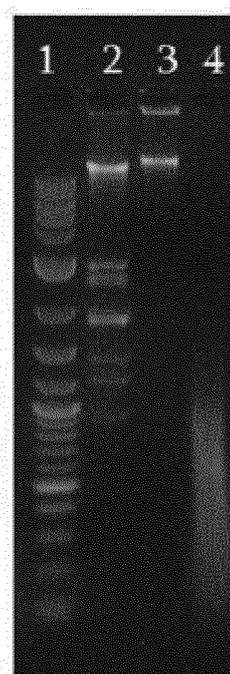
1 - DSM 32612 + EcoRV, 2 - DSM 32612 + AflIII, 3 - Маркер ДНК, 4 - DSM 32610 + EcoRV, 5 - DSM 32611 + EcoRV.

фиг.29



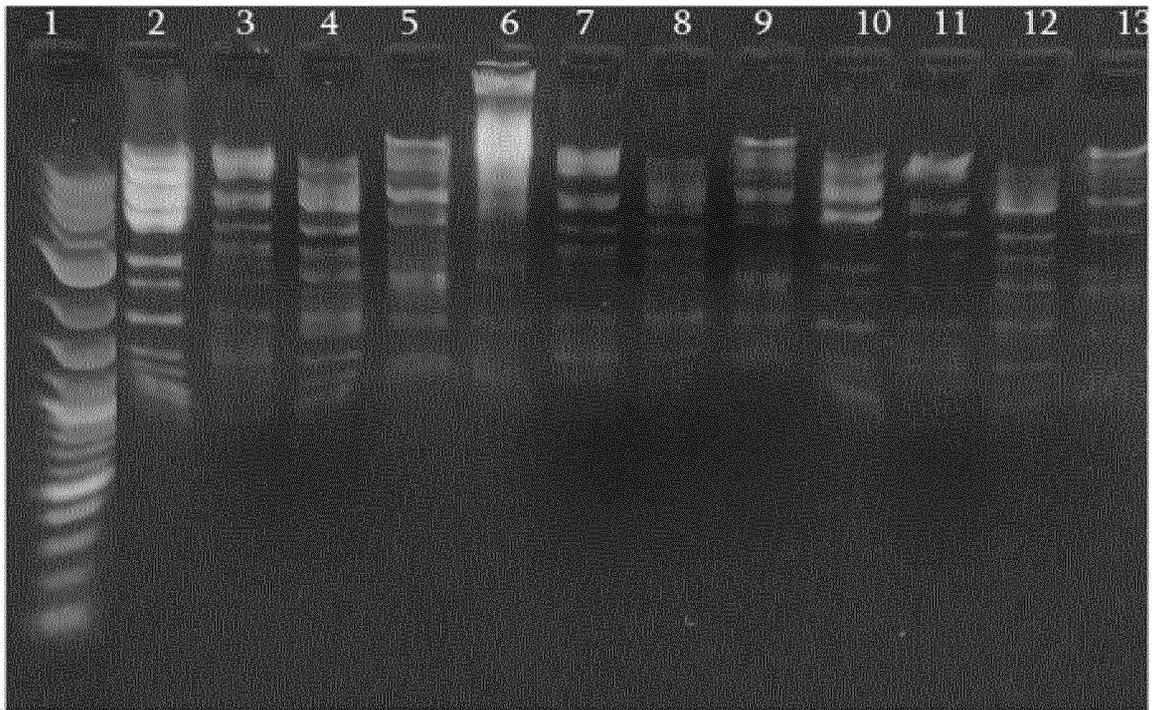
1 - Маркер ДНК
2 - DSM 32613 + AflII
3 - DSM 32614 + AflII
4 - DSM 32615 + AflII

фиг.30



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

фиг.31



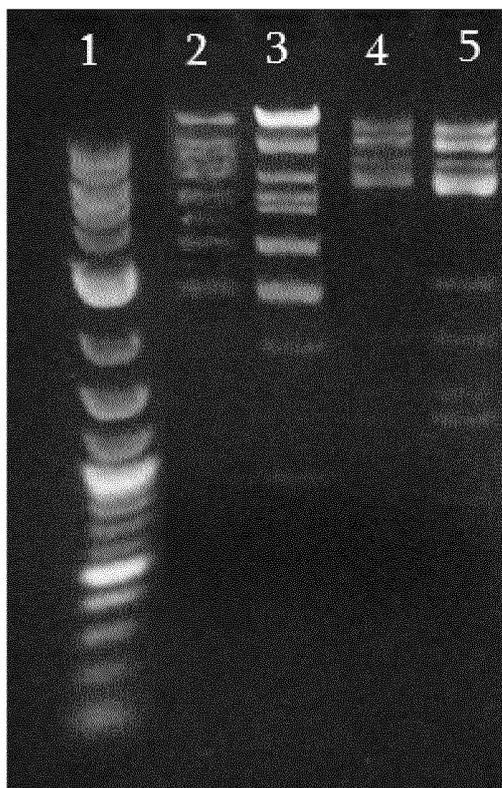
1 - Маркер ДНК, 2 - DSM 32631 + EcoRI, 3 - DSM 32631 + EcoRV, 4 - DSM 32631 + HindIII, 5 - DSM 32631 + SpeI, 6 - DSM 32630 + EcoRI, 7 - DSM 32630 + EcoRV, 8 - DSM 32630 + HindIII, 9 - DSM 32630 + SpeI, 10 - DSM 32629 + EcoRI, 11 - DSM 32629 + EcoRV, 12 - DSM 32629 + HindIII, 13 - DSM 32629 + SpeI

фиг.32



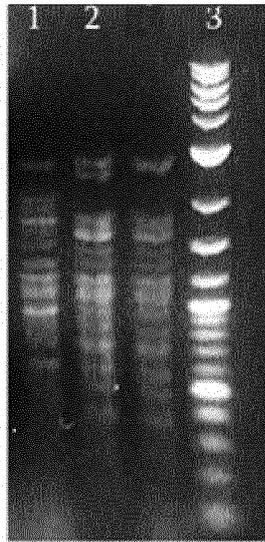
1 - Маркер ДНК,
2 - DSM 32616 + HindIII

фиг. 33



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

фиг.34



- 1** - DSM 32632 + HindIII
- 2** - DSM 32633 + HindIII
- 3** - Маркер ДНК

фиг.35

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 32619	Shigella flexneri-1	Podoviridae; C1 капсид – 60 nm хвост – 14 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 6,5-7,6 мм ярким центром и ореолом	2×10^{10} 1×10^{11}	$K_5=5,4 \times 10^{-9}$ 93,3%
2	DSM 32620	Shigella Flexneri- 1268	Podoviridae; C1 капсид – 68 nm хвост – 4 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 8,5-9 мм маленьким ярким центром и ореолом большого размера	2×10^{10} 2×10^{11}	$K_5=5 \times 10^{-9}$ 92,1%

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 32621	<i>Shigella sonnei</i> -24	Podoviridae; C1 капсид – 58 nm хвост – 8 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 8.5 мм ярким центром и ореолом большого размера	3×10^{10} 4×10^{11}	$K_5 = 5,98 \times 10^{-9}$ 95%
2	DSM 32622	<i>Shigella sonnei</i> -48	Podoviridae; C1 капсид – 54.35 nm хвост – 26 nm (x 230 000)	Большого размера колон. диаметром 6.5 мм маленьким ярким центром и округленным ореолом	5×10^9 1×10^{11}	$K_5 = 7 \times 10^{-9}$ 97%

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 32625	Salmonella Cholerasuis - 747	Myoviridae; A1 капсид – 80 nm хвост – 112nm (x 250 000)	Яркие маленькие колонии диаметром 1,5 мм	3×10^9 2×10^{11}	$K_5 = 7,6 \times 10^{-9}$ 85.2%
2	DSM 32624	Salmonella Newport-285	Myoviridae; A1 капсид – 68 nm хвост – 120 nm (x 250 000)	Маленького размера яркие колонии диаметром 1,5-2 мм	1×10^{10} 3×10^{11}	$K_5 = 9,2 \times 10^{-9}$ 90%

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 32623	Salmonella P.A. - 222	Podoviridae; C1 капсид – 55.3 nm хвост – 25.5 nm (x 235 000)	Большого размера колонии размером 7-7,5 мм, ярким центром и ореолом большого размера	1×10^9 4×10^{10}	$K_5=8.14 \times 10^{-9}$ 86.9%
2	DSM 32626	S.typhimurium 14028	Podoviridae; C1 капсид – 60 nm хвост – 8 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 5 мм, ярким центром и ореолом	3×10^8 1×10^{10}	$K_5=8.84 \times 10^{-9}$ 89%

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 32627	Salmonella P.B-24	Siphoviridae; B1 капсид – 80 nm хвост – 200 nm (x 250 000)	Среднего размера яркие колонии размером 2,5-3 мм	4×10^9 3×10^{11}	$K_5 = 7.774 \times 10^{-9}$ 85.7%
2	DSM 32628	Salmonella heidelberg-67	Myoviridae; A1 капсид – 96 nm хвост – 128 nm (x 250 000)	точечные, яркие колонии диаметром 0,5 мм	2×10^{10} 4×10^{11}	$K_5 = 6.62 \times 10^{-9}$ 81%

Таблица 6

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 _{18ac} B ₂₁ H ₇	Myoviridae; A1 капсид – 64 nm хвост – 112 nm (x 250 000)	Среднего размера диаметром 3 мм прозрачные колонии	1×10 ¹⁰ 3×10 ¹¹	K ₅ =4,43×10 ⁻⁹ 88.57%
2	DSM 32611	E.coli - O ₅₅ B ₅	Podoviridae; C1 капсид – 56 nm хвост – 16 nm (x 250 000)	Большого размера колонии диаметром 6 мм, с ярким центром и ореолом	2×10 ⁹ 1×10 ¹¹	K ₅ =3,76×10 ⁻⁹ 84.8%
3	DSM 32610	E.coli - O ₂₆ B ₆	Myoviridae; A1 капсид – 72 nm хвост – 120 nm (x 250 000)	Среднего размера диаметром 2-2,5 мм прозрачные колонии	4×10 ¹⁰ 4×10 ¹¹	K ₅ =3,58×10 ⁻⁹ 83.3%

Таблица 7

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	Proteus vulgaris-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	1×10^9 4×10^{10}	$K_5=1,23 \times 10^{-9}$ 84.12%
2	DSM 32614	Proteus vulgaris-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	6×10^8 1×10^{11}	$K_5=6,49 \times 10^{-9}$ 80.3%
3	DSM 32615	Proteus vulgaris-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	2×10^9 1×10^{11}	$K_5=9,31 \times 10^{-9}$ 90.3%

Таблица 8

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	Staphylo-coccus aureus 53	Myoviridae; A1 капсид – 98 nm хвост – 257 nm (x 245 000)	Маленькие яркие колонии диаметром 1,5 мм	3×10^{10} 3×10^{11}	$K_5=3,8 \times 10^{-9}$ 85%
2	DSM 32629	Staphylo-coccus aureus 14	Siphoviridae; B1 капсид – 80 nm хвост – 216 nm (x 250 000)	Маленькие яркие колонии диаметром 2 мм	1×10^{10} 4×10^{11}	$K_5=3,38 \times 10^{-9}$ 81.6%
3	DSM 32630	Staphylo-coccus 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^{10} 2×10^{11}	$K_5=3,7 \times 10^{-9}$ 84%

Таблица 9

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	P.aeruginosa - 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	4×10 ¹⁰ 5×10 ¹¹	K ₅ =4×10 ⁻⁹ 86%
2	DSM 32618	P.aeruginosa - 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	1×10 ¹⁰ 1×10 ¹¹	K ₅ =3,89×10 ⁻⁹ 85.7%
3	DSM 32617	P.aeruginosa - 573	Siphoviridae; B1 капсид – 64nm хвост – 140 nm (x 250 000)	Среднего размера колонии диаметром 3-3,5 мм, с ярким центром и ореолом	2×10 ⁹ 2×10 ¹¹	K ₅ =3,4×10 ⁻⁹ 82%

Таблица 10

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 32632	Enterococcus – 50	Siphoviridae; B1 капсид – 87 nm длинный, гибкий хвост - 448 nm (x 230 000)	Маленькие, диаметром 1 мм яркие колонии	1×10^9 1×10^{11}	$K_5 = 1,72 \times 10^{-8}$ 83%
2	DSM 32633	Enterococcus - 317	Siphoviridae; B1 Капсид - 74 nm длинный, гибкий (согнутый) хвост – 226 nm (x 230 000)	Маленького размера диаметром 2 мм круглые яркие колонии	3×10^8 5×10^{10}	$K_5 = 1,94 \times 10^{-8}$ 85.7%

Таблица 11

N	Наименование фага	Наименование бактериального штамма																								
		S.f.4/1-DSM32619	S.f. 4/1268 DSM32620	S.s.3/24-DSM32621	S.s.4/48-DSM32622	S.e./747-DSM32625	S.e./222-DSM32623	S.e./285-DSM32624	S.typh/14028 DSM32626	S.P.B/24 DSM32627	S.heide/67 DSM32628	E.c./B21 DSM32612	E.c./ O ₅₅ B ₅ -DSM32611	E.c./B ₆ -DSM 32610	P.v./I-DSM32613	P.v./I25-DSM32614	P.v./509-DSM32615	SU/53-DSM 32631	SU/14- DSM 32629	SU/51- DSM 32630	P.a/157-DSM32616	P.a./27853 DSM32618	P.a/573-DSM 32617	E./50-DSM32632	E/317-DSM 32633	
1	<i>S. flexneri I-V</i> 219	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	<i>S. flexneri I-V</i> 220	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	<i>S. flexneri I-V</i> 221	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	<i>S. flexneri I-V</i> 222	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	<i>S. flexneri I-V</i> 223	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	<i>S. flexneri I-V</i> 224	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	<i>S. flexneri I-V</i> 225	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	<i>S. flexneri I-V</i> 226	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	<i>S. flexneri I-V</i> 227	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	<i>S. flexneri I-V</i> 228	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	<i>S. flexneri I-V</i> 229	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	<i>S. flexneri I-V</i> 230	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	<i>S. flexneri I-V</i> 231	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

14	<i>S. flexneri</i> I-V 232	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	<i>S. flexneri</i> I-V 233	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	<i>S. flexneri</i> I-V 234	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	<i>S. flexneri</i> I-V 235	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	<i>S. flexneri</i> I-V 236	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	<i>S. flexneri</i> I-V 237	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	<i>S. flexneri</i> I-V 238	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	<i>S. flexneri</i> I-V 239	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	<i>S. flexneri</i> 6 240	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	<i>S. flexneri</i> 6 241	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	<i>S. flexneri</i> 6 242	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	<i>S. flexneri</i> 6 243	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	<i>S. flexneri</i> 6 244	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	<i>S. flexneri</i> 6 245	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	<i>S. flexneri</i> 6 246	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	<i>S. flexneri</i> 2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

30	<i>S.flexneri</i> 14	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	<i>S.flexneri</i> 15	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	<i>S.flexneri</i> 16	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	<i>S.flexneri</i> 17	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	<i>S.flexneri</i> 18	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	<i>S.flexneri</i> 19	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	<i>S.flexneri</i> 20	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	<i>S.flexneri</i> 21	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	<i>S.flexneri</i> 22	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	<i>S.flexneri</i> 23	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	<i>S.flexneri</i> 24	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	<i>S.flexneri</i> 25	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	<i>S.flexneri</i> 26	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	<i>S.flexneri</i> 27	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	<i>S.flexneri</i> 100	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	<i>S.flexneri</i> 101	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	<i>S.flexneri</i> 102	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	<i>S.flexneri</i> 12	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

48	<i>S.flexneri</i> 29	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	<i>S.flexneri</i> 1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	<i>S.flexneri</i> 1268	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	<i>S.sonnei</i> 25	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	<i>S.sonnei</i> 299	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	<i>S.sonnei</i> 2993	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	<i>S.sonnei</i> 28	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	<i>S.sonnei</i> 29	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	<i>S.sonnei</i> 201	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	<i>S.sonnei</i> 202	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	<i>S.sonnei</i> 203	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	<i>S.sonnei</i> 204	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	<i>S.sonnei</i> 205	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	<i>S.sonnei</i> 206	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	<i>S.sonnei</i> 207	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	<i>S.sonnei</i> 24	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

64	<i>S. sonnei</i> 48	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	<i>S. dysenteriae</i> 2A	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	<i>S. typhimurium</i> 1	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	<i>S. typhimurium</i> 2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68	<i>S. typhimurium</i> 3	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	<i>S. typhimurium</i> 4	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	<i>S. typhimurium</i> 5	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	<i>S. typhimurium</i> 6	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	<i>S. typhimurium</i> 7	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	<i>S. typhimurium</i> 8	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	<i>S. typhimurium</i> 9	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	<i>S. typhimurium</i> 10	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	<i>S. typhimurium</i> 11	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	<i>S. typhimurium</i> 12	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78	<i>S. typhimurium</i> 13	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	<i>S. enterica</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

95	<i>S.infantis</i> 10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	<i>S.infantis</i> 103	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	<i>S.montevideo</i> 1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98	<i>S.montevideo</i> 2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99	<i>S.montevideo</i> 3	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	<i>S.montevideo</i> 4	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
101	<i>S.montevideo</i> 5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
102	<i>S.montevideo</i> 6	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
103	<i>S.sofia</i> 1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
104	<i>S.sofia</i> 2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
105	<i>S.sofia</i> 3	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
106	<i>S.sofia</i> 4	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
107	<i>S.sofia</i> 5	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
108	<i>S.sofia</i> 6	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
109	<i>S.sofia</i> 7	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
110	<i>S.sofia</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	8																								
111	<i>S.sofia</i> 9	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112	<i>S.sofia</i> 10	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
113	<i>S. enterica</i> 83	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	<i>S.heide.</i> - 67	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
115	<i>S.enterica</i> -747	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
116	<i>S.enterica</i> -222	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
117	<i>S.enterica</i> -285	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	<i>S.typhimurium</i> - 14	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
119	<i>S.P.B</i> -24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	<i>S.P.B</i> 106	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121	<i>S.P.A</i> 54	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
122	<i>S. anatum</i> 56	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123	<i>S.aureus</i> 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
124	<i>S.aureus</i> 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
125	<i>S.aureus</i> 51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
126	<i>S.aureus</i> 52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
127	<i>S.aureus</i> 53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-

128	<i>S.aureus 54</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
129	<i>S.aureus 55</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
130	<i>S.aureus 56</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
131	<i>S.aureus 57</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
132	<i>S.aureus 58</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
133	<i>S.aureus 59</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
134	<i>S.aureus 501</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
135	<i>S.aureus 502</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
136	<i>S.aureus 503</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
137	<i>S.aureus 504</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
138	<i>S.aureus 505</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
139	<i>S.aureus 506</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
140	<i>S.aureus 507</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
141	<i>S.aureus 508</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
142	<i>S.aureus 509</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
143	<i>S.aureus 510</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
144	<i>S.aureus 511</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
145	<i>S.aureus 512</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-

146	<i>S.aureus 513</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
147	<i>S.aureus514</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
148	<i>S.aureus 515</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
149	<i>S.aureus 516</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
150	<i>S.aureus 517</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
151	<i>S.aureus 518</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
152	<i>S.aureus 519</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
153	<i>S.aureus 520</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
154	<i>S.aureus 521</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
155	<i>S.aureus 522</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
156	<i>S.aureus 523</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
157	<i>S.aureus 524</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
158	<i>S.aureus 525</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
159	<i>E.coli B5</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
160	<i>E.coli B6</i>	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
161	<i>E.coli B21</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
162	<i>E.coli 43888</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
163	<i>E.coli 43899</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

164	<i>E.coli 104</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
165	<i>E.coli 105</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
166	<i>E.coli 106</i>	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
167	<i>E.coli 107</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
168	<i>E.coli 108</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
169	<i>E.coli 109</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
170	<i>E.coli 110</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
171	<i>E.coli 111</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
172	<i>E.coli 112</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
173	<i>E.coli 113</i>	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
174	<i>E.coli 114</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
175	<i>E.coli 115</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
176	<i>E.coli 116</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
177	<i>E.coli 117</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
178	<i>E.coli 118</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
179	<i>E.coli 119</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
180	<i>E.coli 120</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
181	<i>E.coli 121</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

182	<i>E.coli 122</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
183	<i>E.coli 123</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
184	<i>E.coli 124</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
185	<i>E.coli 125</i>	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
186	<i>E.coli 126</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
187	<i>E.coli 127</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
188	<i>E.coli 128</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
189	<i>E.coli 129</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
190	<i>E.coli 130</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
191	<i>E.coli 131</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
192	<i>E.coli 132</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
193	<i>E.coli 133</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
194	<i>E.coli 134</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
195	<i>Proteus m. 13315</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
196	<i>Proteus m. 6A</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
197	<i>Proteus m. 35</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
198	<i>Proteus v. 13</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
199	<i>Proteus v. 1</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
200	<i>Proteus v. 125</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

216	<i>P.aeruginosa</i> 805	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-		
217	<i>P.aeruginosa</i> 806	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
218	<i>P.aeruginosa</i> 807	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
219	<i>P.aeruginosa</i> 808	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
220	<i>P.aeruginosa</i> 809	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
221	<i>P.aeruginosa</i> 811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
222	<i>P.aeruginosa</i> 812	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
223	<i>P.aeruginosa</i> 813	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
224	<i>P.aeruginosa</i> 814	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
225	<i>P.aeruginosa</i> 815	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
226	<i>P.aeruginosa</i> 816	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
227	<i>P.aeruginosa</i> 817	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
228	<i>P.aeruginosa</i> 818	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
229	<i>P.aeruginosa</i> 819	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
230	<i>P.aeruginosa</i> 820	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	

231	<i>P.aeruginosa</i> 821	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-		
232	<i>P.aeruginosa</i> 822	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
233	<i>P.aeruginosa</i> 823	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
234	<i>P.aeruginosa</i> 824	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
235	<i>P.aeruginosa</i> 825	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
236	<i>P.aeruginosa</i> 826	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
237	<i>P.aeruginosa</i> 157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
238	<i>P.aeruginosa</i> 573	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
239	<i>P.aeruginosa</i> 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
240	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
241	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
242	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
243	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 73	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

244	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
245	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
246	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
247	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
248	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
249	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
250	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 701	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
251	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 702	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
252	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 703	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
253	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 704	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

254	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 705	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
255	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 706	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
256	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 707	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
257	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 708	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
258	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 709	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
259	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 710	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
260	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 711	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
261	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 712	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
262	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 713	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
263	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 714	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

264	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 715	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
265	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 716	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
266	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 718	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
267	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 719	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
268	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 720	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
269	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 721	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
270	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
271	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 723	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
272	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 724	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
273	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 725	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

274	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 726	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
275	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 727	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
276	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 728	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
277	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 729	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
278	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 730	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
279	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 731	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
280	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 732	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
281	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 733	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
282	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 734	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
283	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 735	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

284	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 736	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
285	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 737	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
286	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 738	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
287	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 739	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
288	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 740	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
289	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 741	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
290	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 743	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
291	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 744	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
292	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 756	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
293	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 746	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

294	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 747	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
295	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 748	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
296	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 749	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
297	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
298	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 751	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
299	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 752	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
300	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 753	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
301	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 754	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
302	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 755	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
303	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

