

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-146-149

УДК 579.8:578.347

Д.С. Давыдов, Р.Л. Парфенюк, З.В. Дурманова, А.А. Мовсесянц

### Основные требования к порядку ведения коллекций производственных штаммов бактериофагов

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

Разработка и внедрение биологических лекарственных препаратов на основе бактериофагов является одним из направлений Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года, утвержденной решением Правительства Российской Федерации от 25 сентября 2017 г. № 2045-р. Обязательным условием для осуществления задач Стратегии служит создание банков госпитальных штаммов микроорганизмов и банков актуальных бактериофагов. **Цель работы** – определить основные требования к порядку ведения коллекции производственных штаммов бактериофагов. **Материалы и методы.** Проведен анализ нормативно-правовых документов, в которых закреплены цели, задачи, правила создания и использования коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов, определены требования к качеству лечебно-профилактических препаратов бактериофагов. Использованы информационные материалы, содержащие актуальные сведения о биологических свойствах бактериофагов, имеющих значение для их терапевтического применения. **Результаты и обсуждение.** Ведение производственной коллекции бактериофагов характеризуется определенными особенностями, которые необходимо учитывать при создании лечебно-профилактических препаратов бактериофагов, соответствующих современной динамике изменчивости клинических бактериальных штаммов. Для обеспечения клинической эффективности и генетической безопасности фаготерапии препараты бактериофагов должны иметь в своем составе бактериофаги, охарактеризованные по морфологическим, биологическим, генетическим характеристикам. Препараты бактериофагов должны быть адаптированы к эпидемиологически значимым возбудителям гнойно-воспалительных и кишечных инфекций.

**Ключевые слова:** рабочая коллекция патогенов, производственные штаммы бактериофагов, лечебно-профилактические препараты бактериофагов, маточные фаги.

Корреспондирующий автор: Давыдов Дмитрий Сергеевич, e-mail: davydov@exrmed.ru.

Для цитирования: Давыдов Д.С., Парфенюк Р.Л., Дурманова З.В., Мовсесянц А.А. Основные требования к порядку ведения коллекций производственных штаммов бактериофагов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:146–149. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-146-149

Поступила 14.06.2024. Отправлена на доработку 02.07.2024. Принята к публ. 25.09.2024.

D.S. Davydov, R.L. Parfenyuk, Z.V. Durmanova, A.A. Movsesyants

### Basic Requirements for the Procedure for Maintaining Collections of Industrial Strains of Bacteriophages

Scientific Center for Expertise of Medical Application Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** The development and implementation of biological drugs based on bacteriophages is one of the elements of the “Strategy for Preventing the Spread of Antimicrobial Resistance in the Russian Federation for the Period of up to 2030”, approved by the Decision of the Government of the Russian Federation, dated September 25, 2017 No. 2045-r. A prerequisite for the implementation of the objectives of the Strategy is the creation of banks of hospital strains of microorganisms and banks of relevant bacteriophages. **The aim** of the work was to determine the basic requirements for the procedure for maintaining a collection of industrial strains of bacteriophages. **Materials and methods.** An analysis of regulatory documents has been carried out, where goals, objectives, rules for the creation and use of collections of pathogenic microorganisms and viruses are stated, and the requirements for the quality of therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages are set. Information materials containing up-to-date information on the biological properties of bacteriophages that are important for their therapeutic use are considered. **Results and discussion.** Maintaining a production collection of bacteriophages is characterized by certain features that must be taken into account when creating therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages that correspond to the current dynamics of variability of clinical bacterial strains. To ensure the clinical efficacy and genetic safety of phage therapy, bacteriophage preparations should contain bacteriophages that are identified and characterized by morphological, biological, and genetic features. Bacteriophage preparations should be adapted to epidemiologically significant pathogens of purulent-inflammatory and intestinal infections.

**Key words:** working collection of pathogens, production strains of bacteriophages, therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages, mother phages.

*Conflict of interest:* The authors declare no conflict of interest.

*Funding:* The work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal State Budgetary Institution "SCEMAP" of the Ministry of Health of Russia No. 056-00026-24-00 for applied scientific research (state registration number 124022200103-5).

*Corresponding author:* Dmitry S. Davydov, e-mail: davydov@expmed.ru.

*Citation:* Davydov D.S., Parfenyuk R.L., Durmanova Z.V., Movsesyants A.A. Basic Requirements for the Procedure for Maintaining Collections of Industrial Strains of Bacteriophages. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:146–149. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-146-149

*Received* 14.06.2024. *Revised* 02.07.2024. *Accepted* 25.09.2024.

Davydov D.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1768-1362>  
Parfenyuk R.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8190-9299>

Durmanova Z.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2845-1359>  
Movsesyants A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Широкое распространение антимикробной резистентности возбудителей гнойно-воспалительных и инфекционных заболеваний представляет угрозу для биологической и экономической безопасности во многих странах с развитым здравоохранением.

В 2017 г. утверждена Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации до 2030 года (далее – Стратегия). Одним из основных этапов реализации мероприятий, направленных на изучение механизмов возникновения антимикробной резистентности и разработку противомикробных препаратов и альтернативных методов, технологий и средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных заболеваний человека, животных и растений, является разработка и внедрение биологических лекарственных препаратов на основе бактериофагов.

В рамках реализации государственной Стратегии на базе крупных предприятий и научно-исследовательских центров созданы коллекции бактериофагов. Данные коллекции предназначены для учета, хранения и всестороннего изучения характеристик бактериофагов с применением современных вирусологических методов и создания на основе полученных сведений препаратов для лечения бактериальных инфекций и гнойно-воспалительных заболеваний с учетом тех вызовов, которые сложились на сегодня в системе здравоохранения [1–3].

Ведение производственной коллекции бактериофагов характеризуется определенными особенностями, которые необходимо учитывать при создании лечебно-профилактических препаратов бактериофагов, соответствующих современной динамике изменчивости клинических бактериальных штаммов. **Цель работы** – определить основные требования к порядку ведения коллекции производственных штаммов бактериофагов.

## Материалы и методы

В работе использованы нормативно-правовые документы Российской Федерации, определяющие цели, задачи и правила создания коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов.

Коллекционная деятельность в Российской Федерации осуществляется в соответствии с Федеральным законом от 30 декабря 2020 г. № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации». Правила создания, пополнения, веде-

ния и использования коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов, а также создание и ведение национального каталога коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов и вирусов утверждены в постановлении Правительства РФ от 30 сентября 2021 г. № 1668.

Основные требования, предъявляемые к производству и качеству лечебно-профилактических препаратов бактериофагов, включены в Государственную фармакопею Российской Федерации, ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги». Информационные материалы, использованные в работе, содержат актуальные сведения о биологических свойствах бактериофагов и методах их исследования.

## Результаты и обсуждение

В Российской Федерации существуют государственные, исследовательские и рабочие коллекции патогенов. Штаммы патогенных микроорганизмов и вирусов, используемые для производства иммунобиологических препаратов и бактериофагов, определены как рабочие коллекции патогенов.

Ведение рабочей коллекции патогенов предусматривает:

а) целевое использование штаммов рабочей коллекции патогенов в рамках стоящих перед организацией производственных, диагностических и учебных задач;

б) изучение свойств поддерживаемых штаммов с использованием традиционных и современных молекулярно-генетических методов;

в) передача в исследовательские коллекции патогенов выделенных штаммов патогенов для решения вопроса о размещении их в государственных коллекциях патогенов.

Лечебно-профилактические препараты бактериофагов – это лекарственные средства, содержащие комплексы вирулентных бактериальных вирусов, обладающих высокой литической активностью и широким диапазоном действия по отношению к штаммам гомологичного вида бактерий, стабильностью лизиса и специфической направленностью антимикробного действия. Препараты бактериофагов должны соответствовать современной этиологической структуре возбудителей бактериальных инфекций, поэтому, наряду со сбором свежесделанных штаммов бактерий, полученных от больных с различными гнойно-воспалительными и кишечными

заболеваниями, большое значение приобретают постоянный целенаправленный поиск и отбор литических бактериофагов для пополнения производственной коллекции.

Ведение коллекции производственных штаммов бактериофагов включает:

1. Формирование, пополнение и поддержание производственной коллекции бактериофагов. При создании лекарственных препаратов бактериофагов используют только вирулентные бактериофаги природного происхождения. Их выделяют из сточных вод, почвы, клинического материала, пассируют на штаммах гомологичного вида бактерий, производственных и свежевыделенных, усиливая таким образом литическую активность и расширяя диапазон действия в отношении циркулирующих бактериальных штаммов. Коллекция производственных штаммов должна постоянно пополняться за счет расширения географии регионов поиска литических бактериофагов, что позволяет создать фаговую основу препарата, высокоэффективную по спектру антибактериальной активности в отношении эпидемиологически значимых госпитальных и клинических штаммов, универсальную для различных удаленных территорий России [4].

2. Изучение кандидатных штаммов бактериофагов для последующего введения в состав маточных фагов: определение биологических свойств штаммов, их качественных и количественных характеристик с применением современных молекулярно-генетических методов исследования; изучение характера взаимодействия с бактериальными клетками (время максимальной адсорбции, длительность внутриклеточного размножения, величина выхода фага из одной инфицированной клетки, частота образования фагоустойчивых мутантов).

3. Определение таксономической принадлежности штаммов бактериофагов и установление их аутентичности заявленным паспортным данным.

На основании результатов молекулярно-генетических методов типирования бактериофагов (полногеномное секвенирование) и электронной микроскопии фаговых частиц проводят сравнение с известными группами бактериофагов, которые заведомо относятся к литическим и пригодным для терапевтического применения.

4. Все штаммы бактериофагов, находящиеся на хранении в коллекции, подлежат паспортизации. Перечень включаемой информации содержит: происхождение штамма, условия культивирования и длительность хранения, характер взаимодействия с бактериальными клетками, морфологические характеристики вириона с указанием принадлежности к определенному морфотипу, наличие генетических мутаций, генов токсичности, лизогении, антибиотикоустойчивости, рекомбиназ, морфологию негативных колоний [5].

5. Хранение и поддержание в жизнеспособном состоянии коллекционных штаммов.

Производственные штаммы бактериофагов хранят в виде стерильных фильтратов фаголизатов при температуре от 2 до 8 °С в течение установленного срока, с ежегодным пересевом на бактериальных штаммах. Используют как источник фагов при получении свежевыделенных штаммов бактерий и обновлении маточных фагов. Длительное хранение производственных штаммов бактериофагов осуществляется в лиофилизированном состоянии при температуре от 2 до 8 °С. Маточные бактериофаги – главные посевные культуры бактериофагов, используемые для получения серий лекарственного средства – хранятся в виде стерильных фильтратов фаголизатов при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 года.

6. Депонирование штаммов литических бактериофагов, а также штаммов патогенных микроорганизмов, продуцентов бактериофагов (в том числе контрольных штаммов, используемых для проведения научных исследований в области разработки и производства средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней человека, животных и растений).

7. Обеспечение биологической безопасности работ по обнаружению, выделению и культивированию бактериофагов на производственных штаммах бактерий осуществляется при строгом соблюдении санитарно-эпидемиологических правил. К особенностям работы можно отнести защиту производственных штаммов бактерий от внутрилабораторного заражения фагами. Для выделения бактериофагов из объектов внешней среды или клинического материала необходимы изолированные от производства боксированные помещения; в производственной зоне должны быть предусмотрены отдельные микробиологические боксы для работы с производственными бактериальными штаммами и маточными фагами.

Для поддержания эффективности лекарственных средств на основе бактериофагов в условиях роста антибиотикоустойчивости эпидемиологически значимых возбудителей инфекций требуются:

- регулярный мониторинг чувствительности и литической активности бактериофагов к актуальным циркулирующим в клинических условиях штаммам;
- повышение вирулентности фаговых рас путем адаптации к слабочувствительным и фагорезистентным штаммам гомологичных бактерий и расширение диапазона литической активности;

- сбор, хранение, учет и изучение биологических характеристик патогенных штаммов бактерий, выделенных от больных гнойно-воспалительными и инфекционными болезнями, в регионах, где может применяться лекарственное средство на основе бактериофагов.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП»

Минздрава России № 056-00026-24-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200103-5).

### Список литературы

1. Зурабов А.Ю., Каркищенко Н.Н., Попов Д.В., Жиленков Е.Л., Попова В.М. Создание отечественной коллекции бактериофагов и принципы разработки лечебно-профилактических фаговых препаратов. *Биомедицина*. 2012; 1:134–8.
2. Мьякина В.П., Воложанцев Н.В., Денисенко Е.А., Говорунов И.Г. База данных «Коллекция бактериофагов ФБУН ГНЦ ПМБ». В кн.: Материалы V Национального конгресса бактериологов. Москва, 16–17 сентября 2019 г. / Ассоц. Нац. науч.-практ. о-во бактериологов. М.: Династия; 2019. С. 58–9.
3. «Нацимбио» создает всероссийскую базу бактериофагов. [Электронный ресурс]. URL: <https://rostec.ru/news/4521345/> (дата обращения 12.09.2023).
4. Польша О.А., Ворошилова Н.Н., Тикунова Н.В., Морозова В.В., Тикун А.Ю., Крылов В.Н., Юнусова А.А., Дабизева А.Н. Современные подходы к способам создания фаговой основы лечебно-профилактического препарата бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa*. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 2:37–45. DOI:10.24411/2073-3046-2018-10004.
5. Производство, качество, доклинические, клинические исследования лечебно-профилактических препаратов бактериофагов. В кн.: Нормативные правовые акты в сфере обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза. Т. 3. Разработка и проведение исследований биологических лекарственных средств. М.: Ремедиум; 2017. С. 341–52.

### References

1. Zurabov A.Yu., Karkishchenko N.N., Popov D.V., Zhilenkov E.L., Popova V.M. [Creation of native bacteriophages collection

and principle of treatment and prophylactic phage drug design]. *Biomeditsina [Biomedicine]*. 2012; (1):134–8.

2. Myakinina V.P., Volozhantsev N.V., Denisenko E.A., Govorunov I.G. [Database “Collection of bacteriophages of FBSI SSC AMB”]. In: [Proceedings of the V National Congress of Bacteriologists. Moscow, September 16–17, 2019 / Associated National Scientific-Practical Society of Bacteriologists]. Moscow: Dynasty Publishing House; 2019. P. 58–9.

3. Pharmaceutical Holding “National immunobiological enterprise” creates an all-Russian base of bacteriophages. (Cited 12 Sept 2023). [Internet]. Available from: <https://rostec.ru/news/4521345/>.

4. Polygach O.A., Voroshilova N.N., Tikunova N.V., Morozova V.V., Tikunov A.Yu., Krylov V.N., Yunusova A.A., Dabizheva A.N. [Modern approaches to methods for creating a phage base for a therapeutic and prophylactic preparation of bacteriophages *Pseudomonas aeruginosa*]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2018; (2):37–45. DOI: 10.24411/2073-3046-2018-10004.

5. [Production, quality, preclinical, clinical trials of therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages]. In: [Regulatory Legal Acts in the Field of Circulation of Medicines within the Framework of the Eurasian Economic Union. Volume 3. Development and Conduct of Research on Biological Medicines]. Moscow: “Remedium”; 2017. P. 341–52.

### Authors:

Davydov D.S., Parfenyuk R.L., Durmanova Z.V., Movsesyants A.A. Scientific Center for Expertise of Medical Application Products, 8, Bld. 2, Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: [general@expmed.ru](mailto:general@expmed.ru).

### Об авторах:

Давыдов Д.С., Парфенюк Р.Л., Дурманова З.В., Мовсисянц А.А. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2. E-mail: [general@expmed.ru](mailto:general@expmed.ru).