



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **76130** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
A61K 35/66 (2006.01)
A61P 1/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 06790	(72) Винахідник(и): Висеканцев Ігор Павлович (UA), Бабінець Ольга Михайлівна (UA), Марценюк Валентина Пилипівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 05.06.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.12.2012	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.12.2012, Бюл.№ 24	

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ДИСБІОЗУ КИШЕЧНИКА

(57) Реферат:

Спосіб корекції дисбіозу кишечника включає використання пробіотичного препарату клітин *Saccharomyces boulardii*. Використовують препарат цих клітин, іммобілізованих в гелевих носіях.

UA 76130 U

Корисна модель належить до експериментальної медицини і може бути використана при комплексному лікуванні дисбіозу кишечника.

В комплексній терапії дисбіозу кишечника використовують лікування шляхом колонізації кишечника пробіотиками - живими мікроорганізмами та речовинами мікробного походження, які відновлюють мікробіоценоз кишечника. Але деякі мікроорганізми, які використовують як пробіотики, не здатні до фіксації на поверхневих структурах слизової оболонки кишечника, що призводить до їх швидкого виводу з кишечника і зниженню терапевтичної дії. Тому існує проблема пролонгації персистенції препарату пробіотику у кишечнику для підвищення ефективності корекції дисбіозу.

Відомі способи корекції дисбіозу кишечника за допомогою препаратів транзитних пробіотиків, які містять живі або ліофілізовані клітини дріжджів *Saccharomyces boulardii* і бактерій *Bacillus subtilis* [1,2].

Загальним недоліком цих способів є низька їх ефективність через короткотермінову дію таких препаратів, тому що мікробні клітини швидко виводяться із організму із вмістом кишечника.

Найбільш близьким до заявленого способу є спосіб корекції дисбіозу кишечника пробіотичним препаратом "Ентерол 250" (Biocodex, Франція) [3], який являє собою ліофілізовану біомасу клітин дріжджів *Saccharomyces boulardii*, поміщену в пакетики із ламінованої фольги.

Недоліком цього способу є його низька ефективність через те, що пробіотик *Saccharomyces boulardii* виводиться із організму людини вже на 2-5 добу після його вживання.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити такий спосіб корекції дисбіозу, який би забезпечив можливість пролонгувати персистенцію пробіотику *Saccharomyces boulardii* в кишечнику і таким чином підвищити ефективність корекції дисбіозу.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі корекції дисбіозу, який передбачає використання пробіотичного препарату клітин *Saccharomyces boulardii*, згідно з корисною моделлю, використовують препарат цих клітин, іммобілізованих в гелевих носіях.

Спосіб дозволяє збільшити термін персистенції клітин *Saccharomyces boulardii* у кишечнику у порівнянні з прототипом на 5-6 діб, і таким чином підвищити терапевтичний ефект дії препарату.

Спосіб здійснюють таким чином.

Готують препарат живих клітин *Saccharomyces boulardii*, іммобілізованих в гранулах гелевого носія (із альгілату або карагінану). Для іммобілізації в гелі альгілату натрію до суспензії клітин з концентрацією 10^9 - 10^{10} кл/мл додають у співвідношенні 1:1 2 % розчин альгілату натрію. При цьому зразок перемішують покачуванням. Отриману суспензію витримують 5-10 хв при кімнатній температурі і вносять по краплях в 0,2 М розчин хлористого кальцію. Потім гранули відділяють від хлористого кальцію за допомогою сита.

Для іммобілізації в гелі карагінану в скляний посуд вносять 350 мг карагінану, додають 2 мл дистильованої води, посуд закривають кришкою, витримують 15-30 хв при кімнатній температурі. Потім додають 6 мл фізіологічного розчину, посуд поміщають в киплячу водняну баню і плавлять карагінан, похитуючи посуд. Після повного розплавлення карагінан охолоджують до 50-55° і вносять безперервно помішуючи 1,5 мл суспензії клітин з концентрацією 10^9 - 10^{10} КУО/мл. Після цього посуд охолоджують в льодяній бані. Застиглий блок карагінану з клітинами переносять в 2 % розчин хлористого калію, охолоджений до 4-8°, і витримують у холодильнику 20-30 хв. Потім блок поміщають в сито з діаметром пор приблизно 1 мм і перетирають його фарфоровим товчачиком в склянці з 2 % розчином хлористого калію. Отримані гранули витримують 5-10 хв. в 2 % розчині хлористого калію. Отримані гранули з клітинами промивають двічі % розчином хлористого калію і один раз 0,1 М фосфатним буфером.

Отримані препарати клітин *Saccharomyces boulardii*, іммобілізовані в гранулах гелевого носія, використовують одразу після приготування або після зберігання при низьких температурах.

Спосіб пояснюється прикладом

Приклад

Дослідження проводили на безпородних білих щурах масою 150-200 г. Для реалізації моделі хіміотерапевтичного дисбіозу їм вводили перорально по 15 мг ампіциліну і 10 мг метронідазолу протягом 3 днів. Наявність дисбіозу підтверджували за допомогою бактеріологічних методів дослідження видового і кількісного складу пристінкової мікрофлори товстої кишки.

Дослідних тварин розділили на 7 груп. Перша група - контрольна, тваринам не проводили терапію дисбіозу. Друга група - тваринам вводили клітини *Saccharomyces boulardii*, іммобілізовані в гранулах гелю альгілату натрію. Третя група - тваринам вводили гранули гелю

альгілату натрію. Четверта група - тваринам вводили клітини *Saccharomyces boulardii*, іммобілізовані в гранулах гелю карагінану. П'ята група - тваринам вводили гранули гелю карагінану. Шоста група - тваринам вводили живі вільні клітини *Saccharomyces boulardii*, суспендовані у фізіологічному розчині. Сьома група - тварини отримували живі ліофілізовані клітини *Saccharomyces boulardii* із препарату "Ентерол 250". У всіх дослідних групах лікування дисбіозу препаратами тривало 5 діб.

Встановлено, що в контрольній групі протягом всього терміну спостереження дріжджі *Saccharomyces boulardii* були відсутні в кишечнику, а мікробіоценоз кишечника відновився на 24 добу після закінчення курсу лікування (табл.). У другій групі *Saccharomyces boulardii* виявляли в фекаліях протягом 8 діб після закінчення лікування, а мікробіоценоз товстої кишки у тварин цієї групи відновився на 10 добу. У третій групі дріжджі *Saccharomyces boulardii* були відсутні в кишечнику, а мікробіоценоз товстої кишки відновився на 20 добу. В четвертій групі *Saccharomyces boulardii* виявляли в фекаліях протягом 7-8 діб, а відновлення мікробіоценозу товстої кишки відбулося на 10 добу. В п'ятій групі *Saccharomyces boulardii* були відсутні в кишечнику, а мікробіоценоз товстої кишки відновився на 20 добу. В шостій групі *Saccharomyces boulardii* виявляли в фекаліях протягом 4-5 діб, а відновлення мікробіоценозу товстої кишки відбулося на 12-13 добу. В сьомій групі *Saccharomyces boulardii* виявляли в фекаліях протягом 5 діб, а відновлення мікробіоценозу товстої кишки відбулося на 13-14 добу.

В таблиці наведено персистенцію транзитного пробіотика *Saccharomyces boulardii* в кишечнику щурів

із експериментальним дисбіозом.

Таблиця

Група тварин	Препарат, що вводили	Термін виділення <i>S.boulardii</i> із фекалій тварин після закінчення терапії, доба $\bar{X} \pm s \bar{X}$	Термін відновлення мікробіоценозу товстої кишки тварин після закінчення терапії, доба $\bar{X} \pm s \bar{X}$
1	Контроль (препарат не вводили)	відсутні	24±1,8
2	Клітини <i>S. boulardii</i> , іммобілізовані в гранулах гелю альгілату натрію	8,0±0,7	10,0±1,0
3	Гранули альгілату натрію	відсутні	20,0±1,6
4	Клітини <i>S. boulardii</i> , іммобілізовані в гранулах гелю карагінану	7,5±0,6	10,2±0,6
5	Гранули гелю карагінану	відсутні	19,8±1,2
6	Клітини <i>S. boulardii</i> , суспендовані у фізіологічному розчині	4,5±1,0	12,0±1,0
7	Ліофілізовані клітини <i>S. boulardii</i> із препарату "Ентерол 250"	4,7±0,8	13,0±1,4

Примітки: \bar{X} - середнє арифметичне;

$s \bar{X}$ - середнє квадратичне відхилення.

Джерела інформації:

1. Пат. РФ 2264454. МПК⁷ C12N1/20, A61K35/66, C12N1/20. Биопрепарат "Ирилис" на основе бактерий рода *Bacillus* для профилактики и лечения инфекционных болезней и дисбиоза различной этиологии и штаммы бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, используемые для изготовления биопрепарата Соркулова И. Б., Осипова И. Г., Васильева Е. А., Терешкина Н.В., Саркисов С.Э. Оpubл. 20.11.2005.

2. Лекция для врачей: клиническая фармакология биопрепаратов, применяемых для лечения дисбактериозов кишечника / Лиминова О. А., Федотова Л. Э., Садин А. В. - ГОУ ВПО Ивановская государственная медицинская академия МЗ РФ.-2007. Режим доступа: http://www.ortho.ru/6_Paper/2_5_GKT/Disbakterioz_Ivanov.htm.

3. Чубенко С.С, Чубенко Д.С. Клиническая эффективность *Saccharomyces boulardii* в профилактике и лечении дисбактериоза // Здоров'я України, 2006. - №2/1. - С. 6-9.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб корекції дисбіозу кишечника, що включає використання пробіотичного препарату клітин *Saccharomyces boulardii*, який **відрізняється** тим, що використовують препарат цих клітин, іммобілізованих в гелевих носіях.

5

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601