



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 176 668** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁷ **C 12 N 1/20, A 23 C 9/12, A 61 K 35/74// (C 12 N 1/20, C 12 R 1:23)**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2001100282/13, 04.01.2001

(24) Дата начала действия патента: 04.01.2001

(46) Опубликовано: 10.12.2001

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2146454 C1, 20.03.2000. RU 2151797 C1, 27.06.2000. RU 2035871 C1, 27.05.1995. RU 2001678 C1, 30.10.1993. RU 2120762 C1, 27.10.1998. EP 0465677 A1, 15.01.1992. US 5032399, 16.07.1991. ШЕНДЕРОВ Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. - М.: Грантъ, 1998, т. 1, с. 133 и 134.

Адрес для переписки:
634040, г.Томск, ул. Ивановского, 8, ФГУП
НПО "Вирион"

(71) Заявитель(и):
Федеральное государственное унитарное
предприятие научно-производственное
объединение "Вирион"

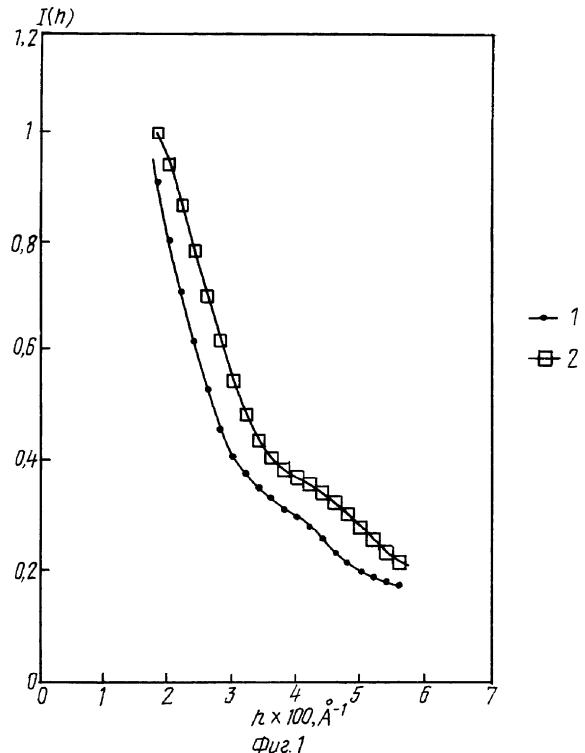
(72) Автор(ы):
Лимарева Т.Д.,
Демешева М.И.,
Полещук Л.Н.,
Аверченко Т.Н.,
Байбаков В.И.,
Галимов Р.В.

(73) Патентообладатель(ли):
Федеральное государственное унитарное
предприятие научно-производственное
объединение "Вирион"

(54) ШТАММ БАКТЕРИЙ LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS N.V.EP 317/402 "НАРИНЭ" ТНСи, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ПРИ ПРИГОТОВЛЕНИИ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии и касается штамма лактобацилл, обладающего способностью продуцировать интерферон в одноклеточных клетках человека, влиять на физиологические и иммунологические процессы в организме. Штамм Lactobacillus acidophilus N.V.EP 317/402 "Наринэ" ТНСи депонирован в ВКПМ под В-8017. Получен путем многолетней селекции исходной культуры L.acidophilus N.V. 317/402 "Наринэ". Отобран по антибиотической активности к возбудителям желудочно-кишечных заболеваний, антибиотико-резистентности, витаминобразующей способности, скорости роста и т.д. Закваска штамма L.acidophilus N.V.EP 317/402 "Наринэ" ТНСи использована в качестве бактериального препарата для получения диетических и лечебных продуктов питания или для непосредственного употребления в пищу как лекарственное средство для лечения и профилактики дисбактериоза и его последствий. 4 ил., 3 табл.





RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** (11) **2 176 668** (13) **C1**
(51) Int. Cl.⁷ **C 12 N 1/20, A 23 C 9/12, A 61 K 35/74// (C 12 N 1/20, C 12 R 1:23)**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2001100282/13, 04.01.2001**

(24) Effective date for property rights: **04.01.2001**

(46) Date of publication: **10.12.2001**

Mail address:

**634040, g.Tomsk, ul. Ivanovskogo, 8, FGUP
NPO "Virion"**

(71) Applicant(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe unitarnoe
predpriyatie nauchno-proizvodstvennoe
ob"edinenie "Virion"**

(72) Inventor(s):

**Limareva T.D.,
Demesheva M.I.,
Poleshchuk L.N.,
Averchenko T.N.,
Bajbakov V.I.,
Galimov R.V.**

(73) Proprietor(s):

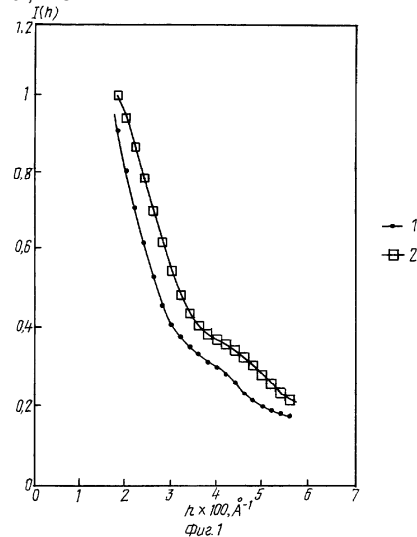
**Federal'noe gosudarstvennoe unitarnoe
predpriyatie nauchno-proizvodstvennoe
ob"edinenie "Virion"**

(54) **STRAIN OF BACTERIUM LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS NV EP 317/402 "NARINE" TNCI
USED FOR PREPARING CURATIVE-PROPHYLACTIC PREPARATIONS FOR INTESTINE
MICROFLORA NORMALIZATION**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology, microbiology. SUBSTANCE: invention relates to the strain of lactobacillus showing ability to produce interferon in human unicellular cells and to effect on physiological and immunological processes in body. The strain Lactobacillus acidophilus N.V.EP 317/402 "Narine" TNCi is deposited in VKPM at N B-8017. The strain is obtained by of many years selection of the parent culture L. acidophilus N.V. 317/402 "Narine". The strain is selected by its antibiotic activity to pathogens of gastroenteric diseases, resistance to antibiotics, vitamin producing capacity, growth rate and so on. Ferment of the strain L. acidophilus N.V.EP 317/402 "Narine" TNCi can be used for preparing dietetic and curative foodstuffs or for direct use in nutrition, as medicinal agent for treatment and prophylaxis of dysbacteriosis and its complications. EFFECT: strain indicated

above, enhanced effectiveness of preparations. 4
dwg, 3 tbl, 2 ex



RU 2 1 7 6 6 8 C 1

RU 2 1 7 6 6 8 C 1

Изобретение относится к биотехнологии и касается штамма лактобацилл, обладающего способностью продуцировать интерферон, влиять на физиологические и иммунобиологические процессы в организме. Штамм может быть использован для приготовления лекарственных препаратов и диетических кисломолочных продуктов

5 питания, предназначенных для нормализации кишечной микрофлоры.

Причины, вызывающие дисбактериоз, известны: это - различные инфекционные заболевания, прием антибиотиков, химио-, гормоно- и лучевая терапия, психоэмоциональные стрессы и неблагоприятная экологическая обстановка, социальные факторы, алкоголизм и др.

10 Они прямо или опосредованно способствуют дисбалансу микробиоценоза организма, и, в первую очередь, кишечной микрофлоры.

Для эффективного лечения дисбактериоза необходимо по возможности устранить его причины и восстановить микрофлору.

15 Таким образом, актуальной задачей является выявление новых штаммов лактобактерий и разработка препаратов и продуктов питания на их основе для профилактики и восстановления нормальной функции кишечной микрофлоры, устранения дисбактериоза и его последствий.

20 Известны перспективные штаммы лактобацилл данного вида, используемые в создании препаратов и молочнокислых продуктов, способствующие регуляции микробиоценоза кишечника и неспецифической иммуностимуляции при дисбактериозах кишечника различной экологии (В.М.Коршунов. "Проблема регуляции микрофлоры кишечника". Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. М. 1995, N 3, с. 48-52).

25 Известен штамм *Lactobacillus acidophilus* ВКМ В-2020 Д-антибиотикорезистентный антагонист возбудителей кишечных инфекций. Штамм рекомендован в качестве основы при разработке антагонистических биологических средств профилактики и лечения кишечных заболеваний, вызванных патогенной и условно-патогенной микрофлорой. Может быть использован для создания бактериальных препаратов для коррекции микрофункциональных нарушений желудочно-кишечного тракта (RU 2063436 C1, С 12 N 1/20, 08.02.94).

30 Известен штамм лактобактерий *Lactobacillus acidophilus*-13 (Агарац), положительно влияющий на регенеративные процессы в кишечнике при лечении желудочно-кишечных заболеваний, используемый для коррекции дисбактериоза разного вида и характера у новорожденных и взрослых.

35 Штамм используют в производстве лечебно-диетического продукта питания, способствующего подавлению роста патогенных форм микроорганизмов и нормализации микрофлоры кишечника, благодаря высокой предельной кислотности штамма порядка 400 °Т (RU 2103354, С 12 N 1/20, 27.01.98).

40 Известен штамм бактерий *Lactobacillus acidophilus*-92 n.v. (Ани), используемый для коррекции дисбактериоза при желудочно-кишечных заболеваниях и у больных раком толстой кишки (RU 2103354, С 12 N 1/20, 27.01.98).

45 Известен штамм бактерий *Lactobacillus acidophilus* N. V. EP 317/402 "Наринэ" ААА, используемый при приготовлении препаратов, диетических и лечебно-профилактических продуктов для лечения дисбактериоза и его последствий (RU, 2146454, А 23 С 9/12, А 61 К 35/74, С 12 N 1/20, 20.03.2000 г.).

50 Известный штамм *Lactobacillus acidophilus* n.v. 317/402 "Наринэ" ИН-МИ-9602 обладает медленной кислотообразующей способностью, максимальное кислотообразование 360°Т. Штамм продуцирует значительное количество безвредных для детей и взрослых антибиотических веществ, подавляющих рост и развитие как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

Многолетние наблюдения показали отсутствие фаголизиса у штамма *Lactobacillus acidophilus* n.v. 317/402 "Наринэ". Кисломолочный продукт готовят заквашиванием цельного молока при (28-40)°С. Свертывание наступает через 5-8 ч, кислотность продукта 60-90°Т. Указанный продукт пригоден в качестве закваски, а также лечебно-

профилактического средства при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Используют продукт в медицинской и ветеринарной практике (SU 163573, С 12 N 1/20, 1964).

Продукт, получаемый с использованием штамма *Lactobacillus acidophilus* n. v. 317/402 "Наринэ", кислотностью не выше 90°Т не обеспечивает получения человеком всего комплекса аминокислот, витаминов, необходимых для коррекции дисбактериозов и различных желудочно-кишечных заболеваний.

Целью изобретения является выявление нового штамма *Lactobacillus acidophilus* n.v. 317/402 "Наринэ" ТНСи, отвечающего возросшим требованиям, предъявляемым к современным препаратам и лечебно-профилактическим продуктам, резистентного к ряду антимикробных препаратов, проявляющего высокую кислотообразующую активность до 380°Т и выраженные антагонистические свойства по отношению к условно-патогенным микроорганизмам, обладающего высокой витаминообразующей способностью, повышенной производительностью α - и γ -интерферона в организме человека. Все эти факторы играют значительную роль в противовирусной и противораковой защите, влияют на физиологические процессы в организме.

Штамм *Lactobacillus acidophilus* n.v. 317/402 "Наринэ" ТНСи получен путем многолетней селекции исходной культуры *Lactobacillus acidophilus* n. v. 317/402 "Наринэ" и направленного отбора по показателям: антибиотическая активность к возбудителям желудочно-кишечных заболеваний, антибиотикорезистентность, динамика размножения бактериальной популяции в питательной среде (по количеству жизнеспособных бактерий в 1 мл штамма), витаминообразующая способность. При культивировании при температуре $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24-36 часов достигается максимальное количество жизнеспособных бактерий, которое сохраняется в течение 2,5 суток.

Селекция проводилась путем традиционного пассирования первоначального штамма n. v. 317/402 "Наринэ" на молочных средах без внесения искусственных химических веществ - мутагенов. В качестве важного технологического селективируемого признака были отобраны вариации пассируемого штамма, самопроизвольно изменившиеся в процессе культивирования (на 100-105 пассаже) по признаку увеличения суммарной плотности липопротеиновых структурных мембран клеток штамма n.v. 317/402 "Наринэ". Устойчивость мембранных структур повышает жизнеспособность клеток штамма при максимальном закислении питательной среды (до 300-500°Т), т. е. при неблагоприятных для штамма условиях. Повышенная стабильность мембранных структур увеличивает конкурентноспособность штамма также при симбиотическом культивировании с другими молочнокислыми бактериями - продуцентами кислот (бактерицинов) и при прохождении клетками штамма кислого желудочного "барьера" в случае его перорального применения. Это особенно важно для лиофилизированных форм бактерий.

Методом измерения суммарной плотности липопротеиновых структур клеток штамма (качественный интегральный анализ внутренней структуры клеток) выбран метод малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР). Это физический метод - аналог рентгеноструктурного анализа, он не требует какой-либо дезинтеграции, разрушения клеток и для исследования достаточно незначительного количества отмытых в физрастворе клеток в виде взвеси, т.е. позволяет оценивать истинно нативную структуру клеток. Анализ проводился на малоугловом рентгеновском дифрактометре "Siemens". Длина волны излучения $\lambda = 0,154$ нм, в диапазоне углов $0,016 < h < 0,056$, где $h = 4\pi \sin\theta/\lambda$. Температура образцов 20°С.

В качестве образцов были взяты лиофилизированные препараты штамма n.v. 317/402 "Наринэ" ТНСи производства ФГУП НПО "Вирион" сер. 237 и исходный штамм n.v. 317/402 "Наринэ" сер.1.

Информативность метода МУРР в целом ранее использовалась в других лабораториях в исследовании устойчивости мембран клеток при лиофильном высушивании, особенно их липопротеидных составляющих. Так, Томсон с соавторами при изучении митохондриальных мембран печени крыс методом МУРР обнаружил, что при влажности 20-

30% существующие изменения происходят в липидной части мембран, их реорганизации при дальнейшем обезвоживании (Shiple G.G. Recent X-ray diffraction studies of biological membranes.- Biological membranes (London - New York), 1973, vol. 2, p.1 - 89). Кнуттон с соавторами при обезвоживании мембранной фракции эритроцитов обнаружил методом МУРР разрушение мембран в липопротеиновой и липидной фракции (Knutton S., Finean J.B., Coleman R. Low angle X-ray diffraction and electron-microscop studies of isolated erythrocyte membrane. - J. Cell Sci., 1970, vol. 7, N 2, p.357-371).

На фиг.1 приведена сравнительная рентгенограмма МУРР двух штаммов, а на фиг. 2 - рассчитанные функции межатомных расстояний в частицах клеток обоих штаммов $P(r)$. В рентгенограмме МУРР предварительно были введены поправки на фоновое рассеяние 0,9% раствором натрия хлорида (физраствором), коллимацию пучка, проведено сглаживание (Свергун Д.И., Фейгин Л.А. Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние. Наука, М., 1986).

На фиг.1, на которой приведены нормированные рентгенограммы МУРР образцов, видно, что рентгенограммы существенно и достоверно отличаются. Аналогичные отличия можно видеть и на функциях $P(r)$, рассчитанных из экспериментальных данных МУРР (фиг.2).

Клетки штаммов п. v. 317/402 "Наринэ" ТНСи (сер.237) и п.v. 317/402 "Наринэ" (сер. 1) были также сравнительно изучены методом МУРР в активном состоянии. Из лиофилизированных образцов сер.237 и сер. 1 были сделаны в одинаковых условиях лабораторные закваски (маточная культура) на стерильном обезжиренном молоке. После сквашивания молока в течение 3-4 часов при температуре $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$ с кислотностью 100°T были отобраны пробы для анализа методом МУРР.

Предварительно клетки обоих образцов отмывали в физрастворе и осаждали на центрифуге Т-51 в течение 10 мин в одинаковых условиях. Из рентгенограмм МУРР анализируемых образцов вычиталось фоновое рассеяние и проводилось сглаживание точек. Погрешность измерения рентгенограмм не превышала 1%.

В табл. 1 и на фиг. 3 приведены нормированные значения интенсивности МУРР от образцов сер.1 и сер.237 в линейной и логарифмической форме. Из табл. 1 и фиг. 3 видно, что начальные участки рентгенограмм практически совпадают, но при номерах точек измерения от 8 до 19 отклонения нормированных значений интенсивности МУРР достигают 2-3%, что превышает максимальную погрешность измерений в 2-3 раза. Это позволяет сделать общее заключение о сравнительном анализе образцов сер. 1 и сер.237: совокупная внутренняя структура клеток "Наринэ" в этих образцах достоверно отличается друг от друга, что указывает на то, что это разные штаммы.

Более крутая ниспадающая кривая от образца сер.237 свидетельствует, что внутренняя структура мембран клеток более конденсирована и гомогенна (возможно более целостна), однородна. В то же время "поднятость" кривой от образца сер. 1 свидетельствует о наличии в мембранах клеток либо более рыхлых, "расплетенных" структур, либо о наличии заметной гетерогенности самих клеток.

Сравнительные данные по антагонистической активности предлагаемого и известных штаммов приведены в таблице 2.

Заявляемый штамм обладает повышенным антагонизмом по отношению к указанным выше представителям энтеропатогенной кишечной микрофлоры. Обладает более высокой скоростью роста, чем исходный штамм, что является позитивным моментом для производства лекарственных препаратов.

L. acidophilus п.v. 317/402 "Наринэ" ТНСи депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ВКПМ В-8017 и коллекции культур микроорганизмов ФГУП НПО "Вирион" под номером В-20, как предназначенный для приготовления сухого препарата "Наринэ".

Культурально-морфологические и биохимические признаки штамма
Клетки палочковидные, обычно правильной формы $2,2 \cdot 0,8 - 0,9$ мкм с закругленными концами. Расположены одиночно или в виде коротких цепочек. Грамположительные, спор

не образуют. Факультативный анаэроб. Колонии на агаризованных средах глубинные, мелкие, выпуклые, непрозрачные, непигментированные. Чаще образуют клубки в виде перепутанных нитей или ватных комочков. Кислотоустойчивый. Бактерии размножаются путем бинарного деления пополам.

5 Лактобактерии этого штамма гомоферментативные микроаэрофилы с факультативно-анаэробным типом дыхания, гетеротрофным типом питания. Штамм обладает метаболизмом бродильного типа, сахароклассический. Сбраживает молоко в течение 8-14 часов при $(38\pm 1)^\circ\text{C}$ с образованием равномерного сгустка. Сбраживает лактозу, глюкозу, сахарозу, мальтозу, маннозу, сорбит, дульцит, галактозу без образования газа. Не
10 сбраживает маннит, глицерин. Не образует индол. Нитраты не редуцирует. Желатину не разжижает. Не продуцирует каталазу. Логарифмическая фаза роста в молочной среде заканчивается к 8-14 часам.

Штамм продуцирует витамины А, В, С, ферменты, никотин, холин, содержит минералы (табл. 3).

15 При внесении штамма в молоко температурой $(38\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 8 часов постепенно увеличиваются количество микробных клеток и кислотность молока. Затем темп роста этих показателей возрастает. Количество жизнеспособных лактобактерий достигает максимальной величины к 36 часам культивирования и составляет 10^{11} КОЕ/мл. Эта
20 величина сохраняется постоянной до 2,5 суток, после чего отмечается снижение, полное отмирание клеток наступает на 5-е сутки.

Наиболее быстрое нарастание кислотности наблюдается через 10-12 часов после внесения штамма, в дальнейшем нарастание кислотности продолжается и достигает максимальной величины $350-400^\circ\text{T}$ к 3-5 суткам. Кривая кислотообразования (фиг. 4) не имеет нисходящего конца, т.к. кислотность после достижения максимального значения
25 остается на этом уровне при дальнейшей выдержке молока при $(38\pm 1)^\circ\text{C}$. Сохранение высокого титра лактобактерий штамма (10^{11} КОЕ/мл) в течение 60 часов на фоне нарастания кислотности до 400°T объясняется тем, что высокоплотные мембранные структуры клеток предлагаемого штамма устойчивы к повреждающему действию кислот.

30 Штамм лифилизирован в среде культивирования с добавлением сахарозо-желатиново-молочной среды.

Устойчивость штамма к антибиотикам

Неустойчив к следующим антибиотикам: бензилпенициллину, стрептомицину, эритромицину, карбенициллину, линкомицину, цифобиду, левомецетину, доксициклину,
35 фуразолидону.

Слабоустойчив к: гентамицину, тетрациклину, олететрину, кефзолу, рифампицину, ампициллину, каномоцину, нитроксолину, фузидину, клофорану, полимиксину, ампиоксу.

Высокоустойчив к: сульфадиметоксину, сульфадимезину, бисептолу, торавиду, сульфалену.

40 Устойчивость штамма к антибиотикам позволяет использовать его в бактерио- и антибиотикотерапии.

Пример 1.

Для получения закваски стерилизованное молоко или пастеризованное молоко заквашивают культурой *L. acidophilus* n.v. 317/402 "Наринэ" ТНСи из расчета 2% от
45 общего количества молока. Смесь инкубируют в течение 28 ч при температуре $(38\pm 1)^\circ\text{C}$. Закваску охлаждают до 6°C , выдерживают при этой температуре 8 ч. Кислотность образовавшегося сгустка 190°T . Количество живых микробных клеток составляет 10^{11} КОЕ/мл жидкой закваски.

Полученная закваска может быть использована в качестве бактериального препарата с
50 высокими селекционными свойствами для получения диетических и лечебных продуктов питания или для непосредственного употребления в пищу. Этот лиофилизированный продукт используют как лекарственное средство для лечения и профилактики дисбактериоза и его последствий.

Пример 2.

Для приготовления кисломолочного продукта "Наринэ" в охлажденное до температуры $(38\pm 1)^\circ\text{C}$ цельное молоко вносят 2% закваски штамма *L. acidophilus* n.v. 317/402 "Наринэ" ТНСи. Смесь перемешивают и выдерживают при температуре 40°C в течение 6 ч или при комнатной температуре $(18-20)^\circ\text{C}$ в течение 8 ч до образования сгустка кислотностью $80-90^\circ\text{T}$, затем помещают в холодильник при температуре $(4-6)^\circ\text{C}$ на 2 часа. Качество приготовленного напитка сохраняется в течение 2-х суток при температуре $(4-6)^\circ\text{C}$.

Питательная ценность продукта "Наринэ" соответствует 30 ккал в 100 г продукта.

Препарат, полученный на основе штамма *L. acidophilus* n.v. 317/402 "Наринэ" ТНСи, прошел клинические испытания в Сибирском медицинском государственном университете на кафедре детских инфекций. Эффективность применения препарата "Наринэ" в комплексной терапии изучалась у 147 детей в возрасте от 3 месяцев до 14 лет с хроническими заболеваниями пищеварительной системы. Первую группу составили дети, страдающие гастродуоденитом, язвенной болезнью 12-перстной кишки, 2-ю группу - дети с хроническими дисфункциями кишечника, синдромом раздраженной толстой кишки, дискинезии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), 3-ю группу - дети с кожными заболеваниями (экземы, нейродермиты, атопические дерматиты). Группу контроля составили дети с сопоставимой патологией, находящиеся на комплексной терапии без применения препарата "Наринэ".

Результаты показали, что назначение препарата "Наринэ" позволило в более короткие сроки нормализовать функцию кишечника, т.е. способствовало восстановлению микрофлоры, подавлению роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, регуляции системы местного иммунитета и ферментативных функций слизистой ЖКТ, а также ликвидировать кожную симптоматику у больных с пищевой аллергией.

Препарат "Наринэ" применяли при лечении 34 детей с заболеваниями ЖКТ, из них инфекционного (20 детей) и аллергического (14 детей) генезов. В контрольную группу входило 20 детей с сопоставимой патологией ЖКТ, которые получали комплексную терапию без препарата "Наринэ". Результаты наблюдений показали, что для нормализации микробиоценоза и функций слизистых оболочек кишечника показано назначение препарата "Наринэ" и продуктов лечебного питания на его основе. Создаваемая за счет живых микробных клеток кислая среда способствует высокой адгезии и вегетации бифидобактерий в кишечнике, способствуя проявлению их антагонистических свойств в отношении грамотрицательных бактерий.

На кафедре акушерства и гинекологии СГМУ была изучена эффективность применения препарата "Наринэ" новорожденным. Продолжительность применения была обусловлена днями пребывания ребенка в роддоме. Результаты наблюдений показали, что препарат "Наринэ" оказывает эффективное влияние на процесс становления нормального микробного биоценоза кишечника новорожденных, т.к. предупреждает заселение кишечника условно-патогенными энтеробактериями. При этом отмечен профилактический эффект в отношении заболеваний кожи (дерматит, экссудативный диатез), слизистой полости рта (стоматит, молочница).

Следует отметить, что у новорожденных, получавших "Наринэ" в родильном доме, кишечные заболевания (кишечные дисфункции, энтероколиты) регистрировались реже, чем в контрольной группе и увеличивалось число детей вообще не болеющих в течение первого года жизни.

В липидном центре клиники института терапии СО РАМН проводилось исследование влияния препарата "Наринэ" на уровень липопротеинов крови у больных атеросклерозом. Для этого использовали экспресс-методику определения изменений фракционного состава липопротеинов крови методом малоуглового рентгеновского рассеяния и методом контраста. В течение 7 недель у 11 человек, получавших "Наринэ", исследовался фракционный состав липопротеинов плазмы крови. У 7 из них до начала лечения фракционный состав липопротеинов плазмы крови имел различную степень отклонения от нормы по фракциям липопротеинов высокой плотности и липопротеинов низкой плотности.

У 4 человек фракционный состав липопротеинов в плазме крови был нормальным, они составили контрольную группу.

Кровь исследовали еженедельно до начала приема "Наринэ", во время приема "Наринэ" и в течение 2-х недель после приема "Наринэ".

5 Проведенные исследования доказали эффективность применения препарата "Наринэ", изготовленного на основе заявляемого штамма. При лечении и профилактике атеросклероза "Наринэ" может использоваться как самостоятельный лечебный продукт. За 7 дней применения даже критический (высокий) уровень концентрации липопротеинов

10 низкой плотности нормализовался без химических дорогостоящих препаратов. Кроме того, в течение 3-х месяцев применения препарата "Наринэ" изучали изменения состояния больных с диагнозом атеросклероз, гипертоническая болезнь 2-й степени. Пациенты, применявшие "Наринэ", постепенно смогли отказаться от химических

15 препаратов, т.к. исчезли приступы тахикардии, стенокардии, артериальное давление установилось 160/100. Кроме того, кисломолочный продукт "Наринэ" прошел испытание в ветеринарии (ЗАО "Лебедевское"). Изучалось его влияние на выживаемость и продуктивность телят. Исследования показали, что применение кисломолочного "Наринэ" способствует увеличению процента выживаемости телят, увеличению продуктивности. Повышение же

20 концентрации бифидобактерий в кале свидетельствует о положительном клиническом результате приема "Наринэ" для лечения дисбактериозов и заболеваний, связанных с нарушением нормальной микрофлоры кишечника животных. На основании данных испытаний "Наринэ" рекомендован для использования в животноводстве для оздоровления телят.

Таким образом, заявляемый штамм может быть использован для лечения

25 дисбактериозов и заболеваний, связанных с нарушением нормальной микрофлоры кишечника как у человека, так и у животных.

Формула изобретения

30 Штамм бактерий *Lactobacillus acidophilus* N.V. EP 317/402 "Наринэ" ТНСи ВКПМ В-8017, используемый при приготовлении лечебно-профилактических препаратов для нормализации кишечной микрофлоры.

35

40

45

50

Таблица 1

Образцы маточной культуры штамма 317/402 «Наринэ» (сер.1) и
LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS n.v. 317//402 «Наринэ» ТНСи
ФГУП НПО «Вирион» г.Томск (сер.237)

	Ln. (с.1)	Ln. (с.237)	с.1	с.237
1	4,60517	4,60517	100	100
2	4,068461	4,068996	58,4669	58,38132
3	3,648107	3,644021	38,40182	38,24532
4	3,343174	3,334212	28,30885	28,05626
5	3,128741	3,114358	22,84519	22,51896
6	2,986118	2,964655	19,80864	19,38802
7	2,87313	2,848695	17,6923	17,26524
8	2,76517	2,737582	15,88174	15,44873
9	2,660275	2,629495	14,30022	13,86676
10	2,556124	2,522348	12,88578	12,45782
11	2,455182	2,421075	11,64867	11,25796
12	2,363603	2,329763	10,62918	10,27551
13	2,281695	2,257035	9,793262	9,554716
14	2,210215	2,190043	9,117673	8,935601
15	2,14183	2,120886	8,515006	8,338522
16	2,074803	2,048135	7,963777	7,761181
17	2,010402	1,978953	7,466315	7,235162
18	1,950227	1,916107	7,03028	6,794453
19	1,895766	1,865426	6,657647	6,458689

Таблица 2

Тест-культура	Зона подавления роста тест-культуры вокруг колоний L.acidophilus, мм		
	L.acidophilus n.v. 317/402 «Наринэ»	317/402 «Нари- нэ» ААА	L.acidophilus n.v. 317/402 «Наринэ» ТНСи
Staphylococcus aureus	30-35	32-38	32-34
Escherichia coli	24-28	26-30	32-35
Salmonella typhi	24-26	24-27	28-30
Klebsiella sp.	23-26	26-28	-
Pseudomonas aeruginosa	25-29	27-32	23-25
Serratia marcescens	26-28	27-30	20-22
Bacillus subtilis	25-27	27-29	28-30
Shigella flexneri 337	-	-	30-32
Shigella flexneri 170	-	-	35-39
Shigella sonnei	-	-	30-33
Proteus vulgaris	-	-	37-40
Proteus mirabilis	-	-	40-42

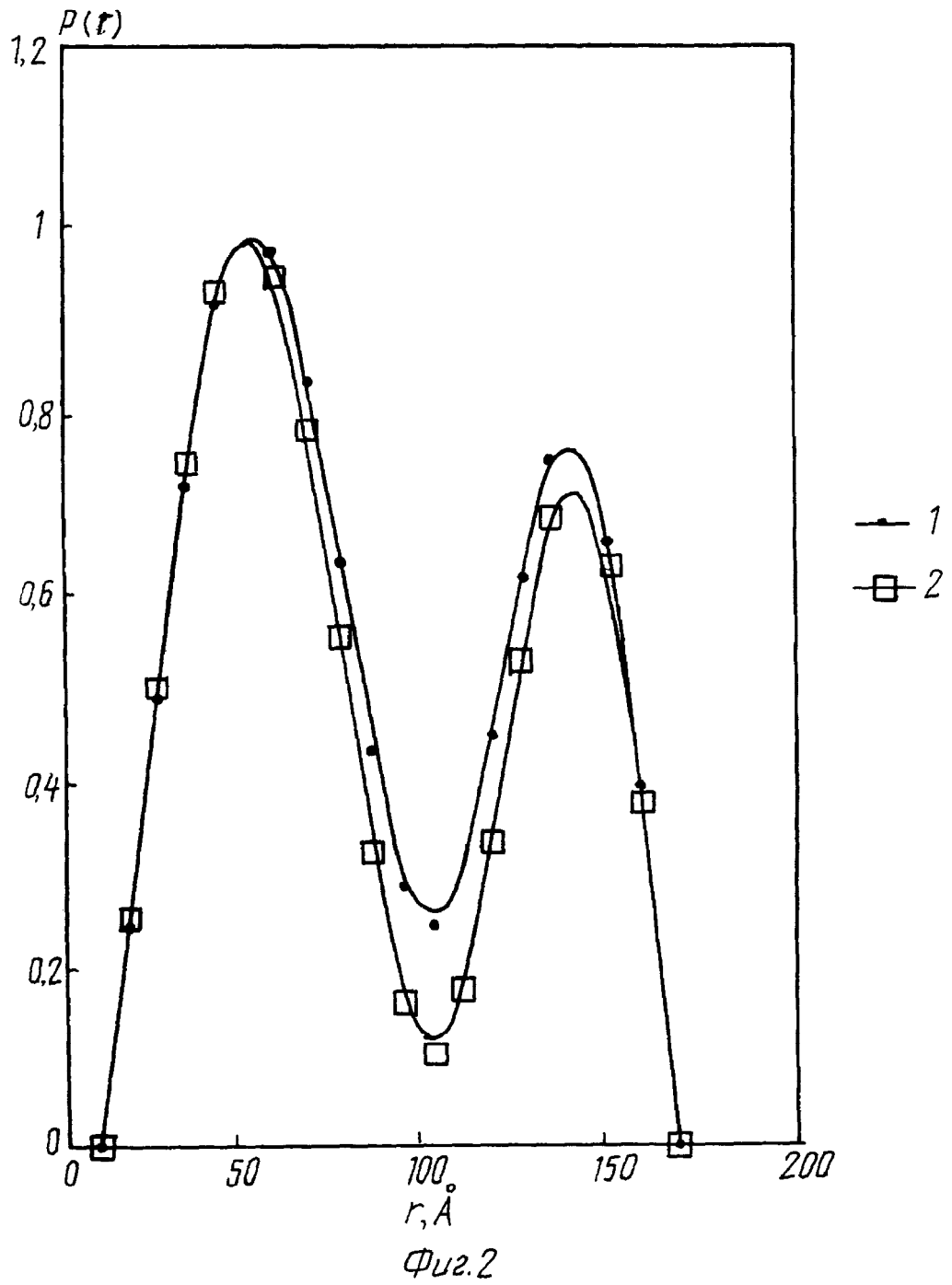
Минеральный и витаминный состав кисломолочного продукта на основе штамма «Наринэ» ТНСи**Содержание витаминов:**

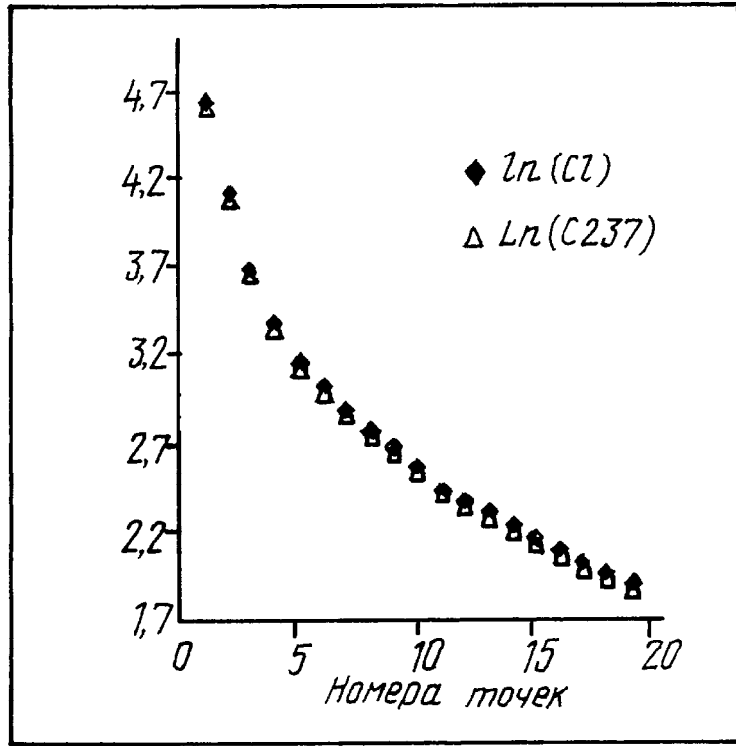
Витамин С, мг	0,7
Витамин А мг	0,02
Витамин В, мг	0,06
Витамин В, мкг	0,40
В-Каротин, мг	0,01
Никотин, мг	0,14
Холин, мг	43,0

Содержание минералов:

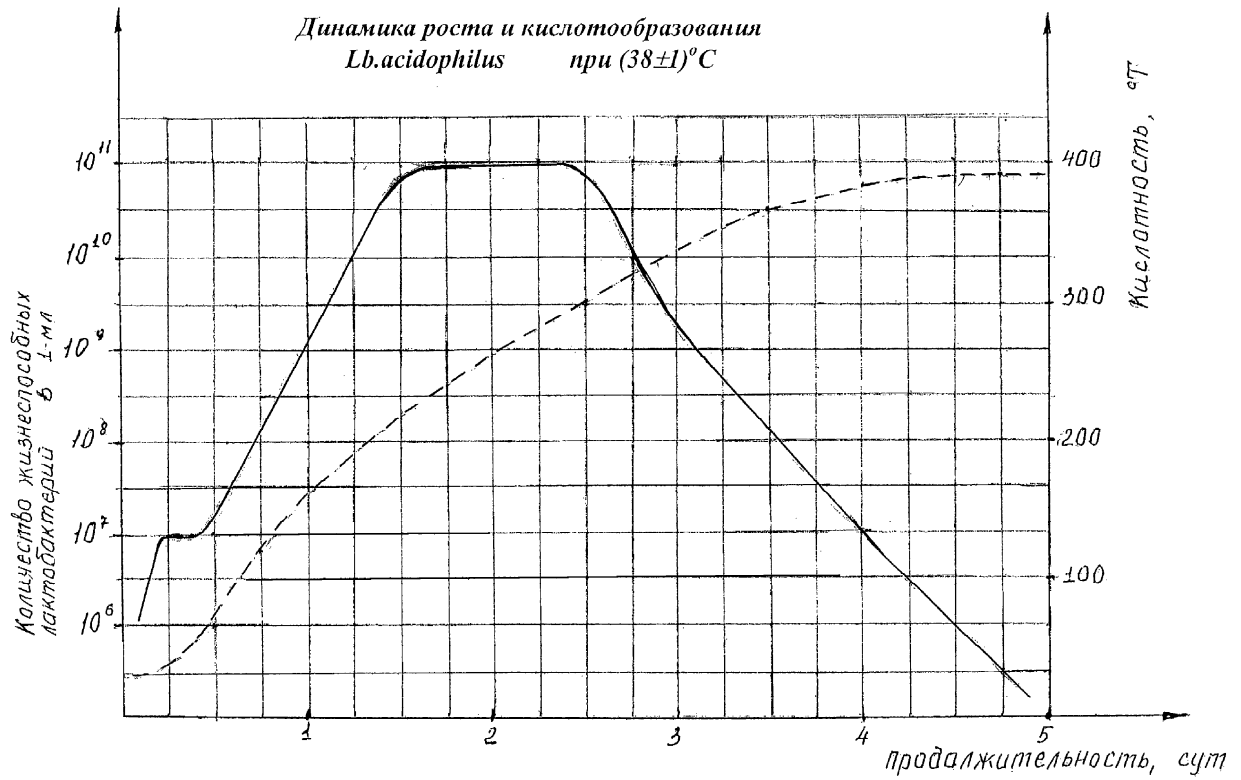
Фосфор, мг	95
Калий, мг	146
Кальций, мг	120
Натрий, мг	50
Магний, мг	14
Сера, мг	29
Железо, мкг	80
Йод, мкг	9
Селен, мкг	2

Красители - отсутствуют
Консерванты – отсутствуют
Тяжелые металлы - отсутствуют
Пестициды - отсутствуют





Фиг. 3



Фиг. 4