



SPECJALISTYCZNA WIEDZA W ZAKRESIE MIKROBIOTY

UNIKATOWE PROBIOTYCZNE SZCZEPY O SPECYFICZNYM DZIAŁANIU



UNIKATOWE ROZWIĄZANIA MIKROBIOTYCZNE DLA KONKRETNÝCH problemów zdrowotnych



BEZPIECZEŃSTWO

Przejrzysta i bezpieczna identyfikacja
Rejestracja w Krajowym Zbiorze Kultur
Mikroorganizmów.*

NATURALNE NIEMODYFIKOWANE
GENETYCZNIE szczepy mikrobiotyczne,
Odpowiednie również dla KOBIEŃ W CIĄŻY I
KOBIEŃ KARMIĄCYCH PIERSIĄ



GASTROODPORNOŚĆ

Szczepy mikrobiotyczne odporne na działanie
soku żołądkowego i NIESPRZYJAJĄCE
ŚRODOWISKO W PRZEWODZIE POKARMOWYM
(pH, żółć, enzymy)



ZAUFANIE

Doradzone i przepisywane przez lekarzy od
1992 r. Ponad 3 miliony wydawanych sztuk
rocznie**



STABILNOŚĆ

PORCJA szczepów mikrobiotycznych
utrzymywana w temperaturze pokojowej
od DATY PRODUKCJI DO KOŃCA OKRESU
WAŻNOŚCI



PRZYLEGANIE

UDOWODNIONE PRZYLEGANIE DO KOMÓREK
błony śluzowej JELITA
Badania na komórkach ludzkich



WYSOKA JAKOŚĆ MIKROBIOTYCZNA

Nadzór nad procesem produkcji w NASZYM
WŁASNYM ZAKŁADZIE
we Francji



SPRAWDZONA SKUTECZNOŚĆ

Sprawdzone w badaniach in vitro, in vivo lub
badaniach klinicznych
BADANIA NA PRODUKCIE KOŃCOWYM

75%

szczepów mikrobiotycznych
dostępnych dla laboratoriów nie spełnia
naszych kryteriów kwalifikacji



ZGODNIE Z WYMOGAMI KARTY HMQ DLA WYSOKIEJ
JAKOŚCI MIKROBIOTYCZNEJ NASZE SZCZEPY
MIKROBIOTYCZNE PRZESZŁY PROCES GRUNTOWNEJ
SELEKCJI, CO GWARANTUJE, ŻE SĄ ONE WYTWARZANE
W OPARCIU O RYGORYSTYCZNE NORMY TECHNICZNE I
ŚRODOWISKOWE.

*CNM: Collection Nationale de Cultures de Microorganismes

** 2017 Dane Openhealth i wewnętrzne dane dotyczące sprzedaży



SPECJALISTYCZNA WIEDZA W ZAKRESIE MIKROBIOTY

I

Zaawansowane kryteria Pileje w selekcji szczepów mikrobiotycznych

- > Pochodzenie i bezpieczeństwo
- > Odporność w środowisku układu pokarmowego człowieka
- > Przyczepność do błony śluzowej jelita
- > Zdolność do przeżycia i długotrwała stabilność

II

Badania Pileje: wykazanie skuteczności naszych rozwiązań mikrobiotycznych

- > Badania in vitro
- > Badania in vivo
- > Badania kliniczne

1

Pochodzenie i bezpieczeństwo

Termin „probiotyki” to połączenie greckich słów „pro” oznaczającego „dla” i „biotikos” czyli „życie”. W przeciwieństwie do antybiotyków probiotyki sprzyjają rozwojowi żywych mikroorganizmów.

Probiotyki to żywe mikroorganizmy, których obecność w odpowiedniej ilości zapewnia korzyści dla zdrowia.

(ŚWIATOWA ORGANIZACJA ZDROWIA (WHO), 2001)

Niewiele drobnoustrojów można nazwać probiotykami. Gatunki, które można określić tym mianem to zasadniczo bakterie mlekowe z 4 różnych rodzajów (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* i *Lactococcus*) obejmujące tysiące gatunków i setki tysięcy (a być może nawet więcej) różnych szczepów.

Lactobacillus

acidophilus

LA 201

RODZAJ

GATUNEK

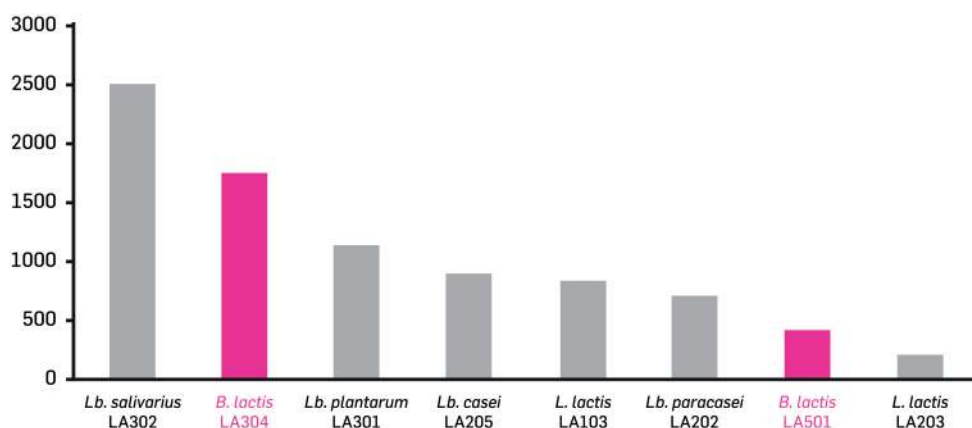
SZCZEP

Tym samym każdy szczep jest niepowtarzalny i niezastępowalny.

Każdy szczep posiada swoje unikalne właściwości, których nie można ekstrapolować na inne szczepy tego samego gatunku.

PRZYKŁAD

Różne szczepy tego samego gatunku, *Bifidobacterium lactis*, mogą wykazywać różne właściwości. Przykład: *B. lactis* LA304 pobudza wytwarzanie IL-10 w tempie 3 razy wyższym niż *B. lactis* LA501.



Czynnik IL-10 wytworzony z jednojądrzastych krwinek pobranych od zdrowych dawców, po 24-godzinnej inkubacji ze szczepami probiotycznymi.



Pochodzenie i bezpieczeństwo szczepu jest gwarantowane, jeśli:



Posiada on status GRAS (ogólnie uznawany za bezpieczny – ang. Generally Regarded As Safe)



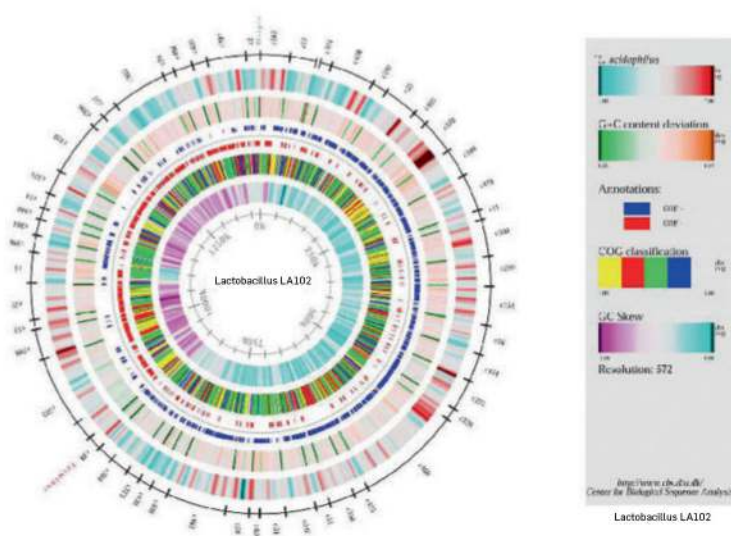
NIE MA OPORNOŚCI NA ANTIBIOTYKI i nie przekazuje genów oporności na antybiotyki



Jest przechowywany i zarejestrowany w Krajowym Zbiorze Kultur Mikroorganizmów (CNCM)



Został określony na podstawie kryteriów fenotypowania (morfologia, badania biochemiczne, warunki wzrostu) oraz kryteriów genotypowania (sekwencja 16S rDNA).



Genetyczne mapowanie

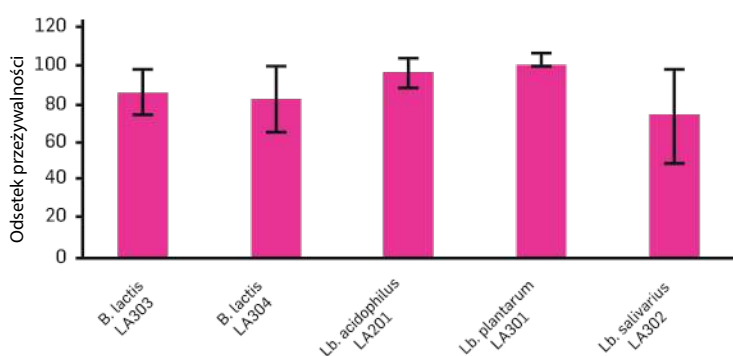
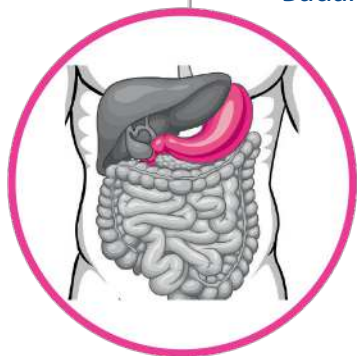
2

ODPORNOŚĆ W ŚRODOWISKU UKŁADU POKARMOWEGO ORGANIZMU

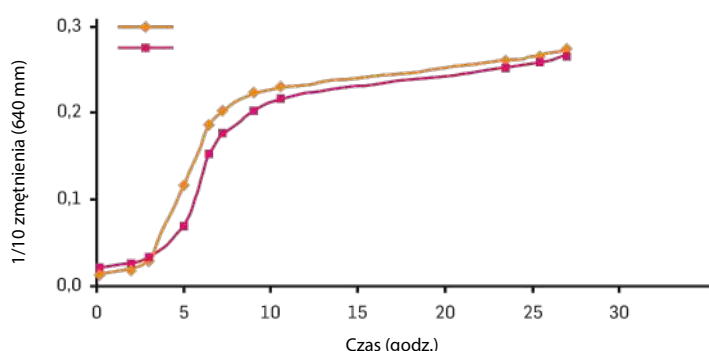
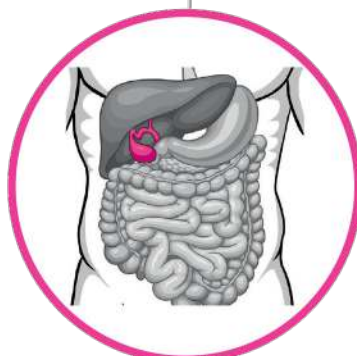
Probiotyki mogą wykazywać swoje korzystne działanie u żywiciela tylko wtedy, gdy będą w stanie przetrwać w warunkach napotykanym w trakcie pasażu przez przewód pokarmowy i dotrzeć do jelita cienkiego i jelita grubego w stanie zdolnym do przeżycia. W celu wyselekcjonowania najbardziej opornych szczepów przeprowadzane są szczegółowe badania w warunkach odzwierciedlających środowisko i przeszkody napotykane przez probiotyki podczas pasażu.

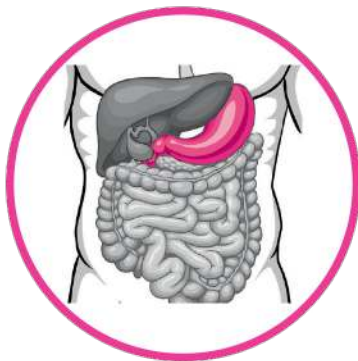
Badanie zdolności do przeżycia w kwaśnym środowisku żołądka

Ocena ilości probiotyków, które przeżyły 60 minut inkubacji w temperaturze 37°C w roztworze z pH 3,5 z dodatkiem pepsyny.

PRZYKŁAD BADANIA**Badania przeżywalności szczepów probiotycznych w kwaśnym środowisku żołądka****Badania oporności na żółć**

Ocena wzrostu probiotyków w pożywce zawierającej (lub nie zawierającej) żółć w stężeniu fizjologicznym (0,3%).

PRZYKŁAD BADANIA**Badanie oporności szczepu *S. thermophilus* LA104 na żółć**



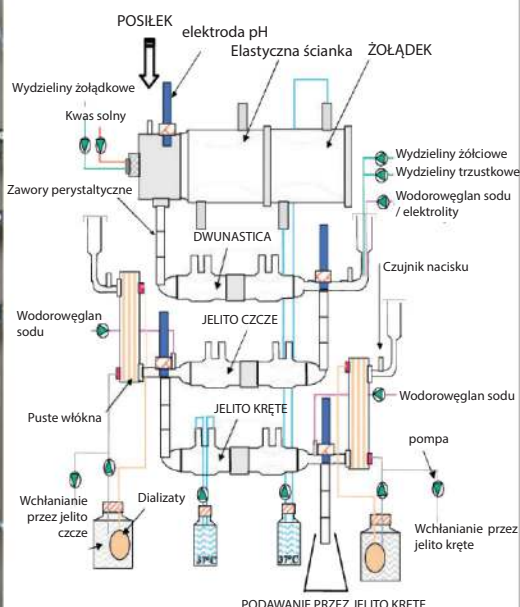
Badania przeżywalności na modelu żołądkowo-jelitowym

- Badanie pasaży probiotyków przez układ żołądkowo-jelitowy: układ pokarmowy (kwaśne pH + pepsyna) przez 10 minut + układ dwunastnicy (sole żółci + pH 6,9 + pankreatyna + trypsyna).

Badania przeżywalności w sztucznym układzie trawiennym

- Sztuczny układ trawienny TIM-1 opracowany przez TNO Nutrition and Food Research (Zeist, Holandia), a następnie zoptymalizowany i zatwierdzony we współpracy z Uniwersytetem w Auvergne to wieloprzedziałowy (żołądek, dwunastnica, jelito czcze i jelito kręte) regulowany komputerowo układ. Szczep jest w stanie się rozmnażać w warunkach bardzo zbliżonych do fizjologicznych (czas, pH itp.), w ruchu perystaltycznym, w obecności enzymów trawiennych, pasaży przez jelita i podczas wchłaniania produktów trawienia.

- Układ ten może być wykorzystywany do identyfikowania szczepów lub kombinacji szczepów, które są w stanie przetrwać pasaż przez jelita i dotrzeć do jelita grubego w postaci zdolnej do przeżycia



Odporność szczepów mikrobiotycznych w warunkach przewodu pokarmowego


3

PRZYCZEPNOŚĆ DO BŁONY ŚLIZOWEJ JELITA

Dlaczego badanie przyczepności szczepów mikrobiotycznych jest istotne?

- ✓ Odpowiednie przyleganie do komórek nabłonka jelitowego
- ⌚ Pozostawanie szczepów probiotycznych w jelicie przez dłuższy czas
- ↻ Lepsza interakcja z bakteriami mikrobioty i układami pokrewnymi (układ odpornościowy, endokrynnny i nerwowy)
- ➔ Działanie

4

ZDOLNOŚĆ DO PRZEŻYCIA I DŁUGOTRWAŁA STABILNOŚĆ

Badania odporności szczepów mikrobiotycznych w różnych warunkach

Szczepy lub kombinacje szczepów są umieszczane w piecu do postarzania i biologicznie monitorowane przez okres do 24 miesięcy.

- ✓ Wybór postaci farmaceutycznej i odpowiednie pakowanie
- 🔍 Skorelowanie przebadanych naukowo preparatów z preparatami oferowanymi profesjonalistom w zakresie ochrony zdrowia

Badania Pileje: wykazanie skuteczności naszych rozwiązań mikrobiotycznych



IN VITRO (KOMÓRKI)

IN VIVO (ZWIERZĘTA)

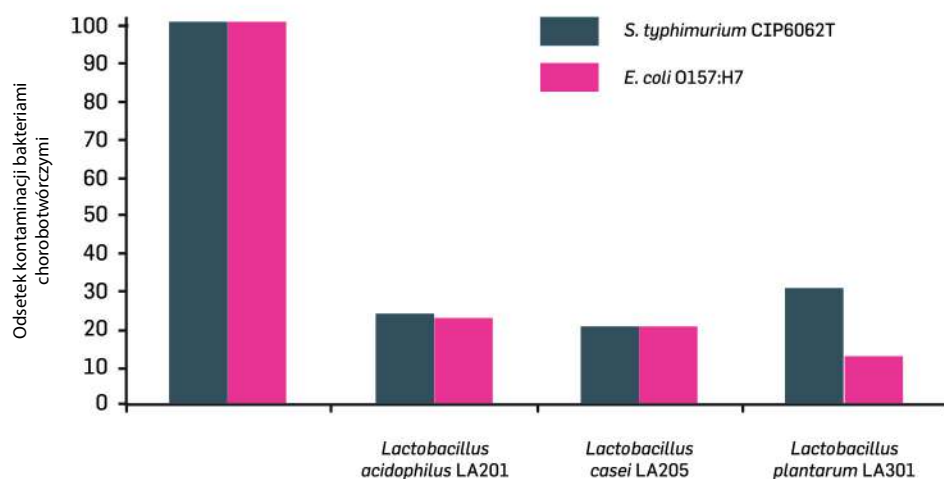
KLINICZNE (LUDZIE)

IN VITRO (KOMÓRKI)

1 ZDOLNOŚĆ HAMOWANIA WZROSTU I PRZYCZEPNOŚCI PATOGENÓW:

PRZYKŁAD BADANIA

a) Hamowanie przez różne szczepy wzrostu dwóch patogenów często towarzyszących biegunce podróżnych: *Salmonella typhimurium* i *Escherichia coli*



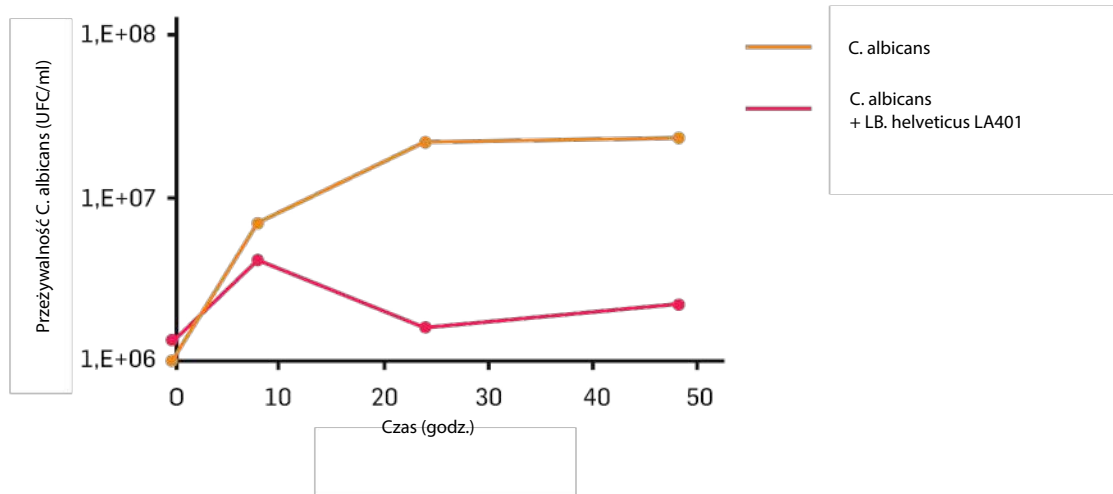
WYNIKI

Trzy przedstawione szczepy probiotyczne ograniczyły liczbę bakterii odpowiedzialnych za biegunkę podróżnych o około 80%.

Badania Pileje: wykazanie skuteczności naszych rozwiązań mikrobiotycznych

PRZYKŁAD BADANIA

b) Hamowanie wzrostu *Candida albicans* przez szczep *Lactobacillus helveticus* LA 401 candidis:

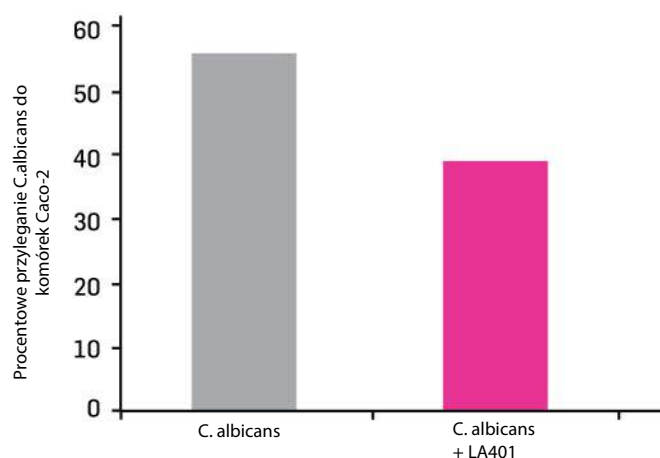


WYNIKI

Szczep probiotyczny *Lactobacillus helveticus* LA 401 candidis ogranicza wzrost *Candida albicans* 10-krotnie.

PRZYKŁAD BADANIA

c) Hamowanie przylegania *Candida albicans* do komórek nabłonka jelitowego w obecności szczepu *Lactobacillus helveticus* LA 401 candidis:



WYNIKI

Szczep probiotyczny *Lactobacillus helveticus* LA 401 candidis znacznie ogranicza przyleganie *Candida albicans*.

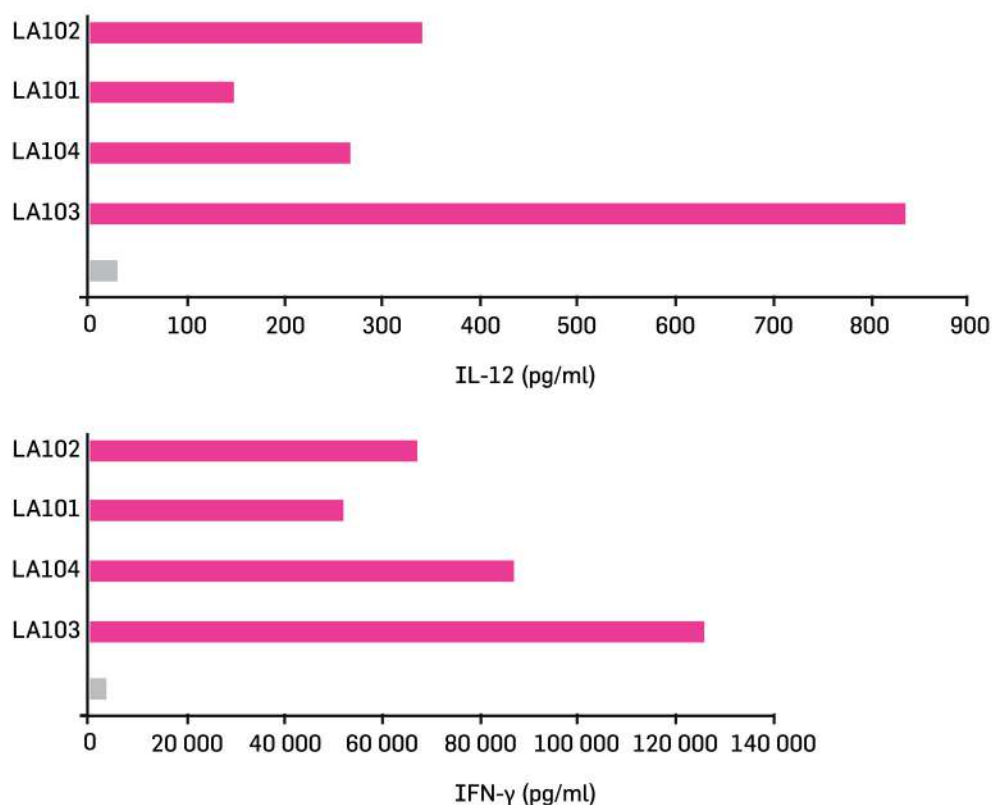


2

WŁAŚCIWOŚCI IMMUNOMODULUJĄCE SZCZEPÓW PROBIOTYCZNYCH:

PRZYKŁAD BADANIA

a) Zdolność szczepów do pobudzania wytwarzania cytokin typu Th1 (IL-12 i IFN-g):



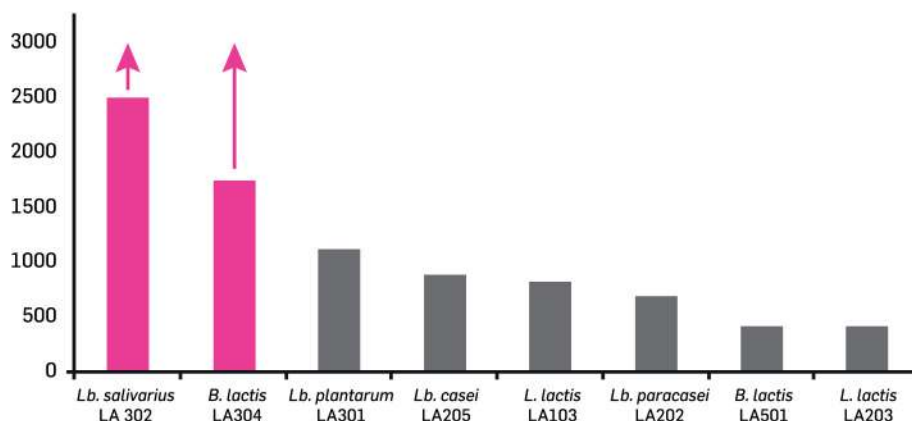
Zwiększenie wytwarzania IL-12 i IFN-g w obecności 4 szczepów probiotycznych (*Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactobacillus helveticus* LA 102, *Lactococcus lactis* LA 103, *Streptococcus thermophilus* LA 104) w następstwie ekspozycji jednojądrzastych krwinek pobranych od zdrowych dawców.

WYNIKI

Szczep probiotyczny *Lactobacillus helveticus* LA 401 *candis* znacznie ogranicza przyleganie *Candida albicans*.

Badania Pileje: wykazanie skuteczności naszych rozwiązań mikrobiotycznych

b) Zdolność szczepów do pobudzania wytwarzania cytokin typu Treg (IL-10)



Wzrost wytwarzania IL-10 w następstwie ekspozycji krwinek jednojądrzastych pobranych od zdrowych dawców po 24 godzinach inkubacji ze szczepami probiotycznymi.

WYNIKI

Szczepy probiotyczne *Lactobacillus salivarius* LA 302 i *Bifidobacterium lactis* LA 304 są zdolne do pobudzania wytwarzania produkcji przeciwzapalnej cytokiny IL-10

BADANIA IN VIVO

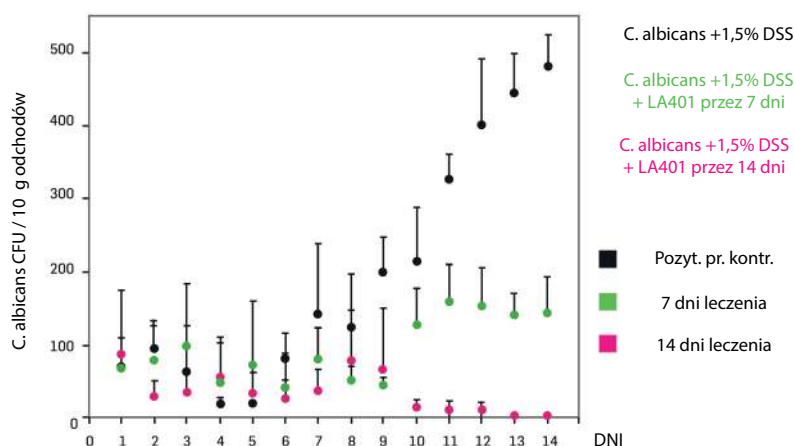
1

HAMOWANIE KOLONIZACJI JELIT PRZEZ *CANDIDA ALBICANS*:

PRZYKŁAD BADANIA

c) Skuteczność szczepu probiotycznego in vivo w zakażeniu jelitowym *C. albicans*

Model infekcji jelitowej *C. albicans* (INSERM U799, Lille)



WYNIKI

Suplementacja szczepem probiotycznym *Lactobacillus helveticus* LA 401 candidis (109 UFC/ dzień) istotnie hamuje kolonizację przez *Candida albicans*.

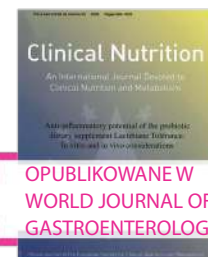
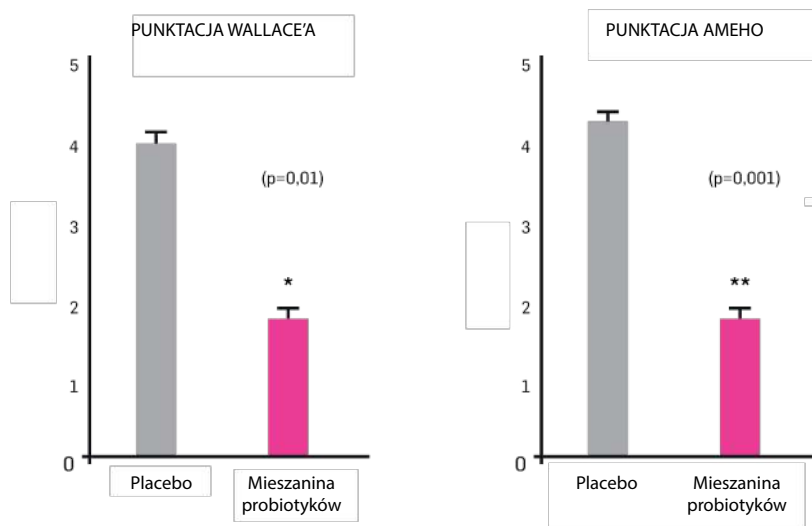


2 ZAPOBIEGANIE ZAPALENIU JELITA GRUBEGO:

PRZYKŁAD BADANIA

Profilaktyczne podawanie mieszaniny szczepów mikrobiotycznych*

Model zapalenia jelita grubego wywołanego przez TNBS (Institut Pasteur de Lille)



WYNIKI

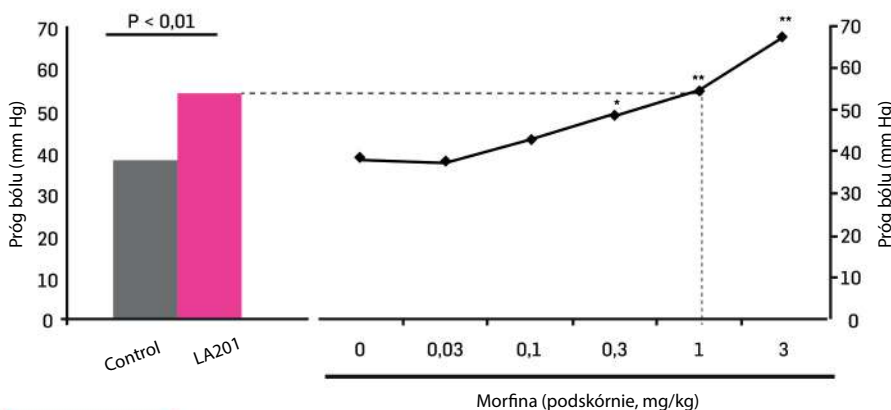
Profilaktyczne podawanie mieszaniny 4 wybranych szczepów probiotycznych istotnie zmniejszyło wskaźniki makroskopowe i histologiczne zapalenia (odpowiednio o 54% i 58%) i zapewniło ochronę przed rozwojem choroby zapalnej jelita grubego.

* *Bifidobacterium lactis* LA303, *Lactobacillus acidophilus* LA201, *Lactobacillus plantarum* LA301, *Lactobacillus salivarius* LA302

3 ZAPOBIEGANIE WRAŻLIWOŚCI TRZEWNEJ

PRZYKŁAD BADANIA

a) Profilaktyczne podawanie szczepu *Lactobacillus acidophilus* LA 201



Skuteczność *in vivo* przy bolesności jelit (model wrażliwości trzewnej).

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

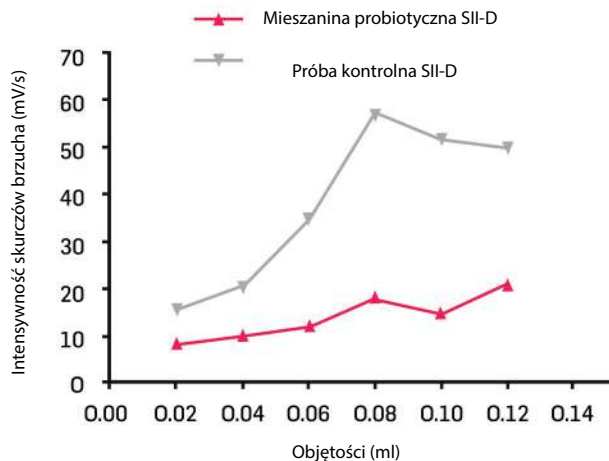
WYNIKI

Doustne podawanie szczepu *Lactobacillus acidophilus* LA 201 przez 15 dni obniżyło próg bólu jelita grubego o 20%. Zaobserwowana korzyść jest równoważna podskórnemu podaniu morfiny w dawce 1 mg/kg.

Badania Pileje: wykazanie skuteczności naszych rozwiązań mikrobiotycznych

PRZYKŁAD BADANIA

- b) Doustne podawanie kombinacji szczepów probiotycznych w modelu zapalenia jelita grubego in vivo



Intensywność skurczów brzucha in vivo w warunkach stanu zapalnego wywołanego perfuzją supernatantów kału od pacjentów z zespołem jelita drażliwego, po profilaktycznym podaniu mieszaniny 5 szczepów probiotyków b) w porównaniu z placebo.

WJG World Journal of Gastroenterology
OPUBLIKOWANE W
WORLD JOURNAL OF
GASTROENTEROLOGY

WYNIKI

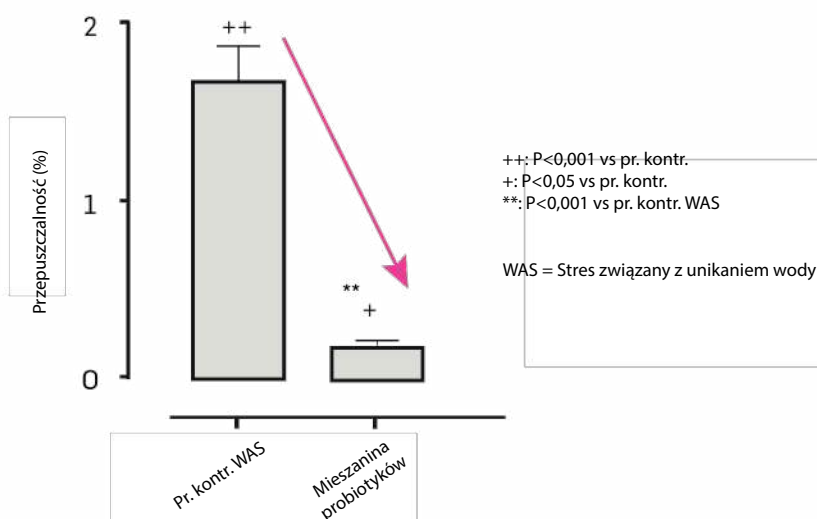
Profilaktyczne podawanie przedstawionej kombinacji szczepów probiotycznych zapobiegało nadwrażliwości trzewnej w warunkach stanu zapalnego.

4

ZMNIEJSZENIE PRZEPUSZCZALNOŚCI JELIT

PRZYKŁAD BADANIA

Profilaktyczne podawanie mieszaniny szczepów mikrobiotycznych** w porównaniu z placebo w warunkach stanu zapalnego



Badanie in vivo całkowitej przepuszczalności paracellularnej jelit zmierzonej przy użyciu $^{51}\text{Cr-EDTA}$ w warunkach stanu zapalnego wywołanego przewlekłym stresem (WAS = stres związany z unikaniem wody).

WJG World Journal of Gastroenterology
OPUBLIKOWANE W
WORLD JOURNAL OF
GASTROENTEROLOGY

WYNIKI

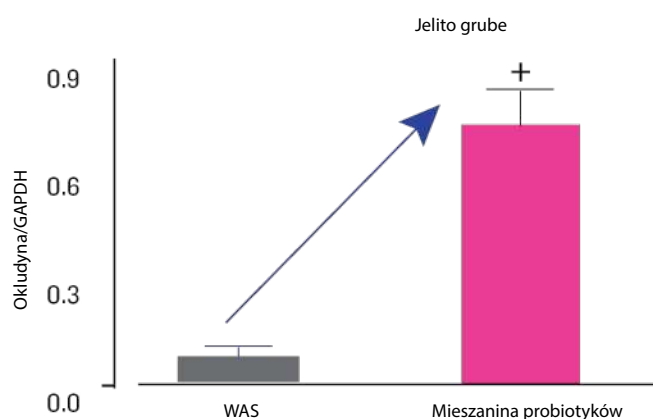
Profilaktyczne podawanie przedstawionej kombinacji szczepów probiotycznych ograniczyło przepuszczalność jelit w warunkach stanu zapalnego.

**5**

P RZYWRACANIE INTEGRALNOŚCI BŁONY ŚLIZOWEJ JELITA

PRZYKŁAD BADANIA

Profilaktyczne podawanie mieszaniny szczepów mikrobiotycznych** w porównaniu z placebo w warunkach stanu zapalnego



Ekspresja in vivo białek tworzących połączenia ścisłe w jelicie grubym w warunkach stanu zapalnego wywołanego przewlekłym stresem (WAS = stres związany z unikaniem wody)



WYNIKI

Profilaktyczne podawanie przedstawionej kombinacji szczepów probiotycznych zwiększyło, w warunkach stanu zapalnego, ekspresję białek tworzących ścisłe połączeniach (pomiędzy komórkami nabłonka w celu utworzenia bariery).

** *B. lactis* LA303, *Lb. acidophilus* LA201, *Lb. plantarum* LA 301, *Lb. salivarius* LA302, *B. lactis* LA304

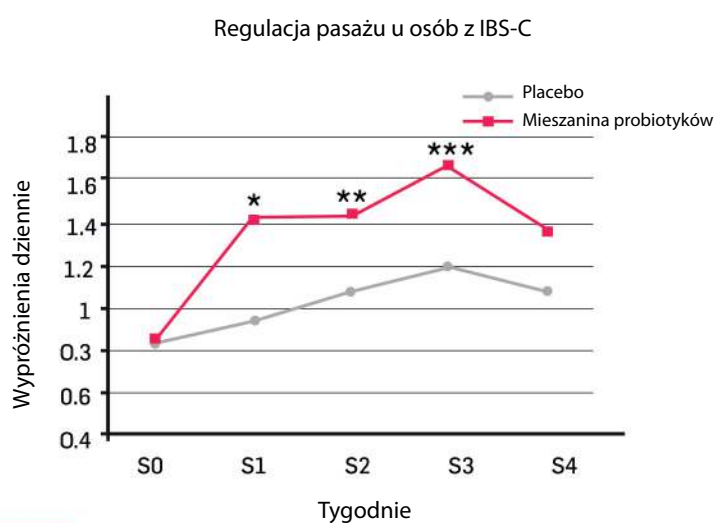
Badania Pileje: wykazanie skuteczności naszych rozwiązań mikrobiotycznych

BADANIA KLINICZNE

1 WPŁYW NA ZESPÓŁ JELITA DRAŻLIWEGO

Skuteczność kliniczną kombinacji 4 wybranych szczepów probiotycznych (*Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactobacillus helveticus* LA 102, *Lactococcus lactis* LA 103, *Streptococcus thermophilus* LA 104) przebadano w podwójnie ślepej próbie kontrolnej placebo u 100 pacjentów z objawami spełniającymi Rzymskie kryteria zespołu jelita drażliwego.

a) Poprawa zaparc u pacjentów z zespołem jelita drażliwego z przewagą zaparc (IBS-C)



Liczba wypróżnień dziennie po 4 tygodniach codziennego przyjmowania kombinacji 4 szczepów probiotyków(c) w porównaniu z placebo.

* $p=0,043$; ** $p=0,029$;

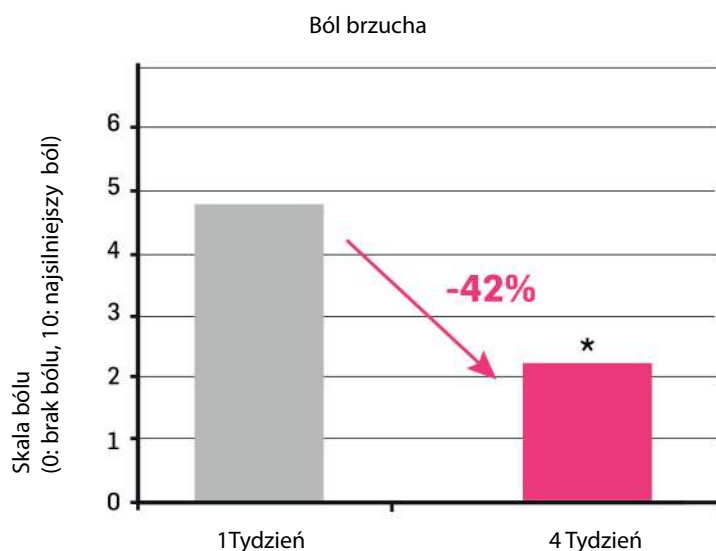
*** $p=0,049$

WYNIKI

Doustne podawanie przedstawionej kombinacji 4 wybranych szczepów probiotyków poprawiło, począwszy od 1 tyg., pasaż jelitowy u pacjentów z zespołem jelita drażliwego z przewagą zaparc (IBS-C).



b) Zmniejszenie bólu brzucha



Intensywność bólu brzucha mierzono w skali wzrokowej od 0 do 10 u osób z zespołem jelita drażliwego po codziennym podawaniu kombinacji 4 szczepów probiotycznych(c) albo placebo przez 4 tygodnie.

* $p=0,048$

WYNIKI

Podawanie przedstawionej kombinacji 4 szczepów probiotycznych(c) przez 4 tygodnie zmniejszyło intensywność bólu brzucha o 42%.

Badanie kliniczne opublikowane w „**Gastroénerologie Clinique and Biologique**” w marcu 2008 r. Wykazało ono, po raz pierwszy we Francji skuteczność probiotyku w przypadku zespołu jelita drażliwego (IBS).

Odniesienie bibliograficzne: „A double blind randomized controlled trial of a probiotic combination in 100 patients with irritable bowel syndrome”, *Gastroénerologie Clinique et Biologique*, Mars 2008, Vol. 32, 147-152. S. Drouault-Holowacz, Bieuvelet, A. Burckel, M. Cazaubien, X. Dray, P. Marteau

Wyniki badania zostały wykorzystane w kilku metaanalizach:

- Mc Farland et Dublin. *World J Gastroentero*. 7 maja 2008 r.; 14(17): 2650-2661.
- Moayyedi et al. *Gut*. 2010 M 59(3):325-32
- Didari et al. *World J Gastroenterol*. 14 marca 2015 r.; 21(10):3072-3084

Kombinowanie szczepów LR jest też zawarte wytycznych publikowanych przez:

- Światową Organizację Gastroenterologii w ograniczaniu objawów zespołu jelita drażliwego (Guarner i in., 2011)
 - Europejskie Towarzystwo Podstawowej Opieki Zdrowotnej w Gastroenterologii (Hungin i in., 2013)
- > 100% specjalistów potwierdziło, że kombinacja szczepów LR pomaga zmniejszyć ból brzucha u pacjentów z zespołem jelita drażliwego.
- > 70 % oceniających zgodziło się z następującym stwierdzeniem: „LR pomaga zwiększyć częstotliwość wypróżnień i/lub konsystencję stolca u pacjentów z zespołem jelita drażliwego”.
- > 80% specjalistów stwierdziło, że LR przyczynia się do poprawy jakości życia pacjentów z zespołem jelita drażliwego.

