



STRESZCZENIE BADANIA

KLINCZNEGO

TRWAŁOŚĆ PODGATUNKU *S. CEREVISIAE BOULARDII* W PRZEWODZIE POKARMOWYM ZDROWYCH OCHOTNIKÓW

Tło

Saccharomyces cerevisiae podgatunek *boulardii* jest odmianą drożdżaka *Saccharomyces cerevisiae*, różni się od *S. cerevisiae* kilkoma taksonomicznymi, metabolicznymi i genetycznymi własnościami. *S. boulardii* jest odporny na kwasowość, proteazy oraz wszystkie antybiotyki antybakteryjne.

S. boulardii jest niepatogennym drożdżakiem, wykorzystywanym we Francji w leczeniu klinicznym biegunki a obecnie jego kliniczne zastosowanie zaczyna się upowszechniać na całym świecie. Wiele badań klinicznych wykazało skuteczność

S. boulardii w profilaktyce lub terapii różnych zaburzeń jelitowych, obejmujących biegunki zależne od antybiotyków, enterocolopatie wywołane przez *Clostridium difficile* oraz biegunkę podróżnych. Skuteczność *S. boulardii* potwierdzono również w przypadku choroby Crohna oraz wrzodziejącego zapalenia okrężnicy. Ponadto, *S. boulardii* przypisuje się działanie przeciwzapalne, przecidrobnoustrojowe oraz zwalczające toksyny.

Biooptima™ S. boulardii jest własnym szczepem drożdżaka, opracowanym przez firmę Gnosis, wykazującym silną homologię genetyczną ze znanym szczepem *S. boulardii* Hansen CBS 5926. Szczep *Biooptima™* wytwarza się w opatentowanym procesie, obejmującym innowacyjne suszenie.

Cel

Zdolność szczepu *Biooptima™*, by przetrwać w aparacie trawienia i skolonizować okrężnicę zdrowych dorosłych ochotników oceniono w niniejszym badaniu w zestawieniu z komercyjnie liofilizowanym szczepem *S. boulardii* (Codex).

Projekt badania

Do badania włączono dwudziestu zdrowych ochotników (10 mężczyzn i 10 kobiet), z czego u wszystkich stwierdzono prawidłowy stan zdrowia w badaniu fizycznym. Wszyscy uczestnicy zostali poproszeni o udzielenie pisemnej świadomej zgody. Kobiety zakwalifikowane do badania miały ujemny wynik testu ciężowego i nie karmiły piersią. Ochotników podzielono na dwie grupy, po dziesięć osób (5 mężczyzn i 5 kobiet). Jedna grupa otrzymywała dzienna dawkę doustną szczepu *Biooptima™ S. boulardii* przez 7 kolejnych dni, natomiast

pozostała - liofilizowany szczep *Codex S. boulardii* w identycznym reżimie terapeutycznym. Wszyscy ochotnicy przyjęli około $5,0 \times 10^9$ jednostek tworzących kolonie (cfu, żywotne komórki drożdżaka) w każdej dziennej dawce. Szczegółowe liczby żywych komórek drożdżaków w obu produktach podano w tabeli 1. Uczestnicy badania musieli wrzucić sproszkowany *S. boulardii* do szklanki wody pitnej i wypić zawiesinę.

Pobrano kał w trzech punktach czasowych, mianowicie w czasie 0 (przed leczeniem), 7 oraz 10 dnia od rozpoczęcia leczenia, włączając w zakres obserwacji czas poprzedzający leczenie, cały okres zażywania *S. boulardii* oraz 3 dni kontrolne po zakończeniu leczenia.

Tabela 1 – liczba żywych komórek w produktach zawierających *S. boulardii*

Szczep <i>S. boulardii</i>	Liczba mikroorganizmów (cfu/g)
<i>Biooptima™</i>	$4,8 \times 10^9$
Codex	$5,1 \times 10^9$

Punkty końcowe badania

Próbki kału zamieszczono na selektywnym podłożu z agarem Sabourauda z dodatkiem ampicyliny i chloramfenikolu, sprzyjając rozwojowi drożdżaków. Płytki inkubowano w temperaturze 37°C przez 48 godzin w środowisku anaerobowym. Następnie, oszacowano liczebność kolonii, aby ocenić żywotność *S. boulardii* oraz stopień kolonizacji jelita przez szczep. Informacje dotyczące dobrostanu, związanego z przyjmowaniem produktu, uzyskano, rozdając ochotnikom kwestionariusz.

Wyniki

Wzrost liczby żywych komórek drożdżaków w kale po 7 dniach leczenia kształtował się podobnie dla obu produktów i okazał się spójny z przewidywanym stopniem kolonizacji, określonym na podstawie dotychczasowych prób. Jednostki tworzące kolonie *S. boulardii* po 7 dniach leczenia w okrężnicy ochotników, wzrosły, odpowiednio, o wartość logarytmiczną 3,2 i

3,4 dla *Biooptima™* i produktu Codex (Rys. 1, Tabela 2). Trwałość dwóch drożdżaków w jelicie po zakończeniu leczenia również okazała się podobna. W 10. dniu od rozpoczęcia leczenia, a właściwie trzy dni po przerwaniu dziennego spożywania zarówno *Biooptima™* i produktu Codex *S. boulardii*, CFU w próbkach kału spadły do wartości logarytmicznej, odpowiednio, o 0,7 i 1,0 wyższych od stanu sprzed leczenia, (Rys. 1, Tabela 2), zmniejszając się, odpowiednio, o 2,5 i 2,4 wartości logarytmiczne.

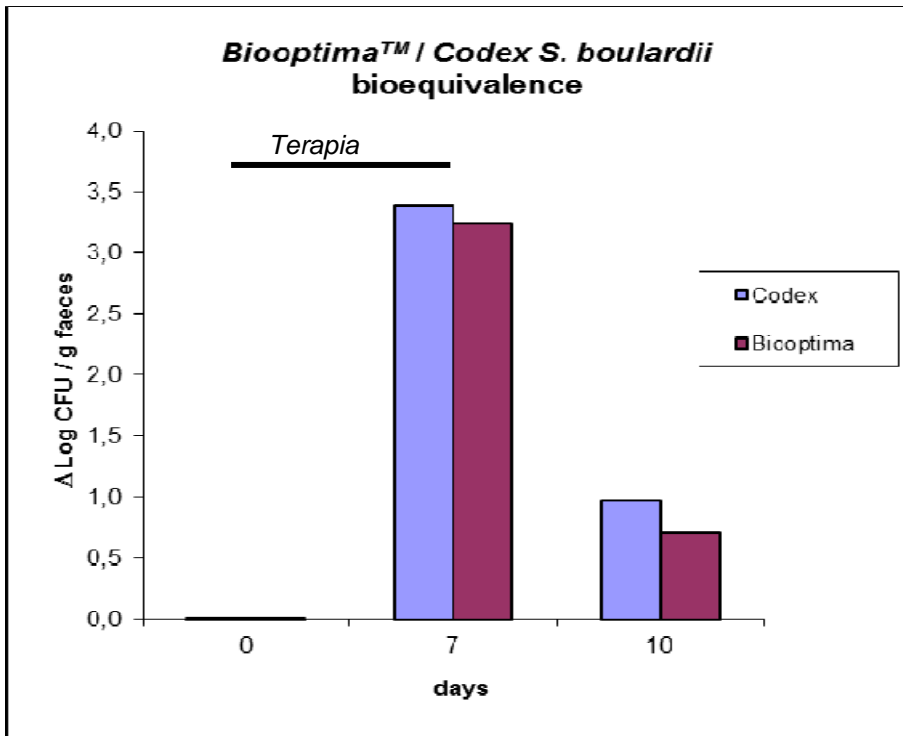
Co do kwestionariusza na temat fizjologicznego oddziaływania *Biooptima™* i produktu Codex, ochotnicy odpowiedzieli na pytania o uśmierzanie objawów i poprawę zdrowia przewodu pokarmowego. Rys. 2 pokazuje podstawowe efekty fizjologiczne, stwierdzone przez 20 ochotników. Odpowiedzi zaznaczono jako proporcję procentową w stosunku do wszystkich

informacji zwrotnych od ochotników z określonej grupy, dopuszczono odpowiedzi wielokrotne i z tego względu wartość całkowita wynosi >100%. Leczenie *Biooptima*TM uznano za przyczyniające się do ożywienia perystaltyki o znaczny odsetek, podczas gdy lepszą konsystencję stolca odnotowano z nieznacznym wzrostem procentowym w grupie przyjmującej produkt Codex. W obu grupach, jeden ochotnik na 10 zgłaszał większą łatwość wypróżniania.

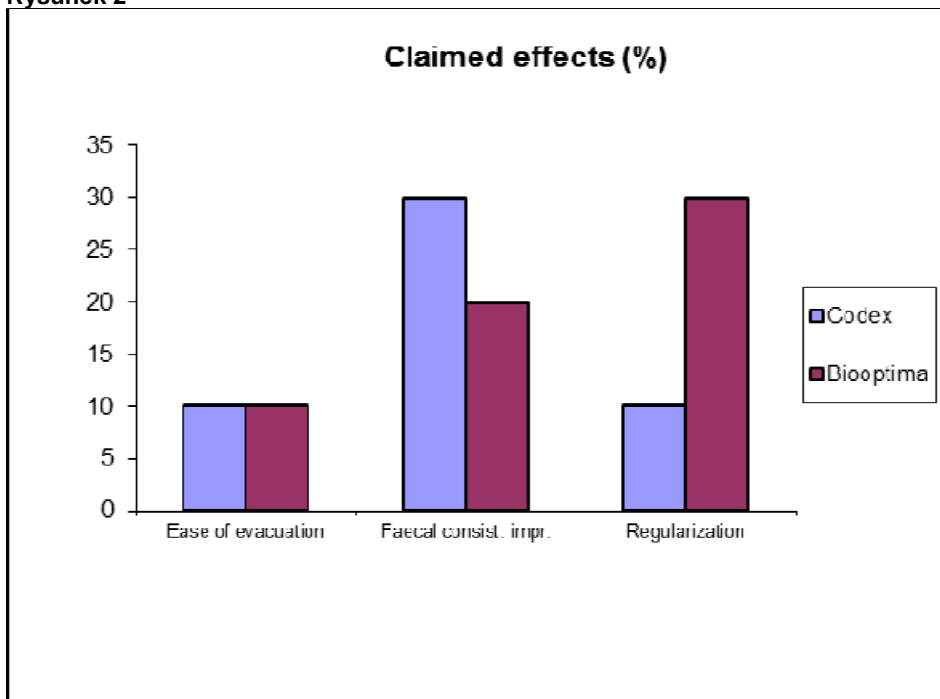
Tabela 2 – Indywidualne dane, dotyczące kolonizacji jelita przez *S. boulardii* po doustnym zażywaniu *Biooptima*TM lub produktu Codex. Wartości wyrażono jako Delta Log (Log CFU_t – Log CFU₀) / g w kale.

<i>Biooptima</i> TM			Codex		
Pacjent	7 dni	10 dni	Pacjent	7 dni	10 dni
1	5,1	3,1	11	5,7	2,1
2	3,2	1,3	12	5,9	1,2
3	0,7	-0,3	13	0,0	0,0
4	4,2	0,1	14	2,5	1,0
5	3,6	1,5	15	4,1	1,4
6	1,5	0,3	16	3,6	2,2
7	1,6	-0,3	17	0,0	0,0
8	2,0	-1,2	18	4,5	1,8
9	5,3	0,0	19	4,7	0,0
10	5,2	2,6	20	2,9	0,0
Średnia	3,2	0,7	Średnia	3,4	1,0
Odchylenie Standardowe	1,7	1,4	Odchylenie Standardowe	2,1	0,9

Rysunek 1



Rysunek 2



Wnioski

Biooptima™ tymczasowo skolonizował jelito zdrowych ochotników, osiągając maksimum JTK pod koniec terapii, obecność żywych kolonii *S. boulardii* była nadal znaczna po 48 godzinach po zakończeniu leczenia na poziomie znacznie przekraczającym stan sprzed leczenia. Liczebność kolonii *Biooptima™* wzrastała i spadała porównywalnie do produktu referencyjnego Codex. Ochotnicy przekonywali o znacznym ożywieniu perystaltyki w odróżnieniu od produktu Codex .

Publikacja

Metodologie i procedury wykorzystane w badaniu opisano w raporcie, w którym udokumentowano kwalifikację ochotników, kryteria włączenia i wyłączenia, metody mikrobiologiczne oznaczania *S. boulardii* w kale, jak również pytania i odpowiedzi w kwestionariuszu.

Uwaga na temat referencji dotyczących współpracy naukowej

Badanie przeprowadzono w AAT (*Advanced Analytical Technologies*), organizacji prowadzącej badania na zlecenie, która jest spółką typu spin-off uniwersytetu *Università Cattolica del Sacro Cuore*, mieszczącego się w Piacenza, we Włoszech, i której podstawowe działanie polega na badaniach biorównoważności na zlecenie. AAT zajmuje się również analizą mikrobiologiczną próbek biologicznych, zebranych w próbach klinicznych.