

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040422**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.05.30

(21) Номер заявки
201990086

(22) Дата подачи заявки
2017.07.18

(51) Int. Cl. **A61P 17/00** (2006.01)
A61K 35/74 (2015.01)
A61K 35/745 (2015.01)
A61K 35/747 (2015.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКОВ В ЛЕЧЕНИИ И/ИЛИ ПРОФИЛАКТИКЕ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА

(31) **16382342.0**

(32) **2016.07.18**

(33) **EP**

(43) **2019.12.30**

(86) **PCT/EP2017/068131**

(87) **WO 2018/015388 2018.01.25**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БИОНОУ РИСЁРЧ, С.Л.; КОРОТТ,
С.Л.; БИОПОЛИС, С.Л. (ES)**

(72) Изобретатель:
**Наварро Лопез Висент Мануэль,
Рамирез Боска Ана Адела, Перез
Оркуин Хосе Мануэль, Рамон
Видал Даниэль, Женовес Мартинез
Сальвадор, Ченолл Куадрос Мария
Эмпар, Кодонер Кортес Франциско
Мануэль (ES)**

(74) Представитель:
Угрюмов В.М., Гизатуллин Ш.Ф. (RU)

(56) **US-A1-2016143963**

DATABASE WPI, Week 201645, Thomson Scientific, London, GB; AN 2016-30967X, XP002764923, & KR 20160053447 A (CELL BIOTECH CO LTD), 13 May 2016 (2016-05-13), abstract

DATABASE WPI, Week 201340, Thomson Scientific, London, GB; AN 2013-H88136, XP002764924, & KR 20130049554 A (CELL BIOTECH CO LTD), 14 May 2013 (2013-05-14), abstract

DATABASE WPI, Week 200461, Thomson Scientific, London, GB; AN 2004-630667, XP002764925, & JP 2004250337 A (SUNSTAR CHEM IND CO LTD), 9 September 2004 (2004-09-09), abstract

EP-A1-2236598

JAE-GU SEO et al.: "Alleviation of Atopic Dermatitis through Probiotic and Mixed-probiotic Treatments in an Atopic Dermatitis Model", HAN-GUG CHUGSAN SIGPUM HAG-HOEJI - KOREAN SOCIETY FOR FOOD SCIENCE OF ANIMAL RESOURCES, vol. 31, № 3, 30 June 2011 (2011-06-30), p. 420-427, XP055326259, KR, ISSN: 1225-8563, DOI:10.5851/kosfa.2011.31.3.420, the whole document

HATICE KUBRA AKAY et al.: "The relationship between bifidobacteria and allergic asthma and/or allergic dermatitis: A prospective study of 0-3 years-old children in Turkey", ANAEROBE, vol. 28, 1 August 2014 (2014-08-01), p. 98-103, XP055257897, GB, ISSN: 1075-9964, DOI: 10.1016/j.anaerobe.2014.05.006, the whole document

(57) Настоящее изобретение предназначено для использования пробиотической композиции, содержащей *Bifidobacterium animalis* подвид *lactis* (*B. lactis*), *Bifidobacterium longum* и *Lactobacillus casei*, конкретно штаммов *B. lactis* CECT 8145, *B. longum* CECT 7347 и/или *L. casei* CECT 9104, в лечении и/или профилактике атопического дерматита.

B1**040422****040422 B1**

Область техники

Настоящее изобретение относится к пробиотической композиции и использованию указанной композиции для лечения и/или профилактики атопического дерматита. Вследствие этого настоящее изобретение можно рассматривать как включаемое в область медицины, в частности в лечение кожных заболеваний.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Атопический дерматит (AD) представляет собой зудящее воспалительное кожное заболевание хронического течения, характеризующееся развитием очагов экземы с характерным образом распределения, которое поражает пациентов с кожной гиперреактивностью к различным факторам окружающей среды, которые безвредны для пациентов, не страдающих атопией. Пациенты, страдающие атопией, часто имеют астму, или аллергический ринит, или AD в личном или семейном анамнезе и имеют повышенные уровни IgE в сыворотке. Атопический дерматит чаще всего поражает детей, но может сохраняться и/или может начаться в подростковом или взрослом возрасте.

Распространенность AD составляет от 4 до 20% населения. Существуют большие различия между сельской или городской средой, причем в последнем случае заболеваемость выше. Заболеваемость AD, вероятно, увеличивается по следующим причинам: западный образ жизни, увеличение возраста матери, загрязнение окружающей среды, курение матери и сокращение грудного вскармливания. У сорока пяти процентов (45%) детей AD развивается в первые шесть месяцев жизни и у 85% в первые пять лет. Когда заболевание начинается у детей в возрасте до двух лет, 20% имеют постоянные симптомы в возрасте семи лет.

При том что атопический дерматит клинически проявляется в виде экземы как в острых, так и в хронических состояниях, это заболевание имеет значительную вариабельность в

- 1) диапазоне клинических проявлений;
- 2) их генетической основе; и
- 3) патогенетических механизмах, лежащих в основе клинических проявлений.

Одна из наиболее распространенных гипотез, объясняющих происхождение атопического дерматита, предполагает, что он является одним из ряда проявлений, затрагивающих в данном случае кожу, системного процесса, вовлекающего другие органы и системы организма человека, порождающего ряд симптомов, таких как астма, пищевая аллергия и аллергический ринит среди прочего. На самом деле у высокого процента пациентов с этими заболеваниями имеется повышенный уровень IgE и эозинофилов в периферической крови, хотя происхождение и клинические последствия неясны.

Что касается патофизиологических механизмов, то предполагается, что основную роль в его происхождении играет иммунный ответ. Действительно последние данные указывают на наличие дендритных клеток кожи (антигенпрезентирующих клеток) и регуляцию воспалительно-иммунных сигналов, опосредованных Th2-лимфоцитами, в происхождении AD. Данные указывают на то, что патофизиологическое происхождение AD можно обнаружить в этих иммунологических механизмах, включающих как антигенпрезентирующие дендритные клетки кожи, так и иммунную регуляцию и воспалительные сигналы, опосредованные Th2-лимфоцитами. В настоящее время источник стимула, запускающего иммунологический каскад, возникающий при AD, неизвестен.

Заболевание имеет широкий спектр клинических проявлений, начиная от малых форм, таких как экзема кистей рук, до более серьезных форм, таких как эритродермическая сыпь. Специфических изменений патологического или лабораторного типа нет, поэтому диагностика AD является клинической, а стандартный диагноз соответствует критериям Ханифина-Райка (Hanifin J.M. et al., Acta Derm Venereol, 1980, 92:44-7).

Клинические характеристики AD могут варьировать в зависимости от возраста и включены в диагностические критерии; они включают зуд, экзематозные поражения и поражения вследствие расчесов.

Зуд. Один из самых важных и закономерных проявлений атопии. Атопический зуд интенсивен и обычно вызывает вспышки. Зуд заставляет пациентов травмировать себя расчесами. Хотя причина зуда не совсем понятна, по-видимому, это связано с выделением медиаторов воспаления и цитокинов.

Экзема. Экзематозные поражения могут быть острыми и хроническими. Острые поражения характеризуются пятнами, папулами и эритематозными, везикулярными, экссудативными и очень зудящими бляшками. Повторные расчесы и ссадины приводят к хроническим поражениям, которые характеризуются выраженным утолщением кожи, сопровождающимся лихенификацией и очевидным присутствием сухих фиброзных папул.

Лихенификация. Наблюдаются характерно лихенизированные поражения кожи, состоящие из нечетко выраженных бляшек с утолщением кожи с выраженными кожными складками и линиями.

Пруриго. Мелкие папулы с незаметным пузырьком и выраженной натертостью, которые являются результатом энергичного расчесывания.

Эксфолиативный дерматит. Случаи обширной атопии могут клинически проявляться в виде генерализованного эксфолиативного дерматита, включенного в дифференциальную диагностику эритродермии.

Помимо установления диагноза, необходимо оценить или определить количественно степень тяжести. С этой целью были разработаны различные методы и критерии для оценки степени тяжести и мони-

торинга ответа на лечение в клинических испытаниях и наблюдательных исследованиях и даже в клинической практике, когда цель состоит в том, чтобы представить прогресс у пациента с большей точностью, чем описание, предоставленное субъективным восприятием пациента, ухаживающего лица или врача. В этом отношении наиболее обоснованным и используемым методом является так называемый индекс SCORAD (Шкала атопического дерматита), разработанный группой "Европейская специальная группа по атопическому дерматиту" в 1993 г. (European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index, *Dermatology*, 1993, 186:23-31). Было доказано, что это лучший метод оценки степени тяжести атопического дерматита в сравнительных исследованиях, а также он наиболее широко обоснован в плане достоверности, воспроизводимости, чувствительности и приемлемости. SCORAD представляет собой систему подсчета баллов, которая учитывает степень и интенсивность пяти типов основных поражений АД (эритема, отек/папула, мокнутие/образование корочек, экскориация и лихенификация) и симптомы (зуд и потеря сна).

Существует некоторое расхождение в отношении значений индекса SCORAD, что определяет различные степени тяжести. Некоторые испанские группы считают, что легкая, умеренная или тяжелая степени соответствуют показателям индекса SCORAD <25, 25-40 или >40 соответственно, тогда как другие авторы на основе корреляций с лабораторными тестами используют показатели <20, 20-40 или >40, соответствующие определению легких, умеренных и тяжелых симптомов.

Существует консенсус в отношении лечения АД, направленный, во-первых, на предотвращение зуда и устранение воспалительного поражения и, во-вторых, на предотвращение рецидивов (Munoz F., 2002, *JANO*, 1432:52-7; Boguniewicz M., Schmid-Grendelmeier P., Leung DYM, 2006, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 118:40-3). Для предотвращения зуда и царапин назначают H1-антигистаминные препараты, хотя их эффективность четко не продемонстрирована. Основной целью лечения экземы является контроль за воспалительными поражениями, что также помогает контролировать зуд. Поэтому в зависимости от тяжести поражения и состояния пациента используют топические кортикостероиды различной силы. Препаратами с очевидно лучшими результатами являются традиционные H1-антигистаминные препараты, которые вызывают седативный эффект (гидроксизин, клемастин, дексхлорфенирамин) и H1-антигистаминные препараты нового поколения (дексфенфлурамин, лоратадин, цетиризин и производные), которые являются менее седативными, но иногда показывают результаты, которые статистически значимо не отличаются от плацебо (Boguniewicz M. et al., 2006, Quoted ad supra).

Неблагоприятные эффекты топических кортикостероидов создают ограничения для использования. Наиболее частыми являются неблагоприятные реакции в месте применения. При периокулярном применении обычно появляется следующее: атрофия кожи, петехии, атрофические стрии, гипертрихоз, депигментация, телеангиэктазия, фолликулит и глаукома. Менее часто описывают более серьезные системные неблагоприятные эффекты, такие как подавление гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, задержка роста или кушингоид.

Отсутствие у некоторых пациентов ответа на кортикостероиды и их неблагоприятные эффекты привели к разработке новых лекарств для лечения воспаления. Среди наиболее изученных присутствуют топические ингибиторы кальциневрина (такролимус и пимекролимус) Leung DYM, Bleder T., 2003, *Lancet*, 361:151-60; Munoz, F., 2002, *JANO*, 1432:52-7). Тем не менее все еще есть сомнения в безопасности этих препаратов при длительном лечении. Фактически каталог продуктов, содержащих такролимус или пимекролимус, для местного лечения атопического дерматита указывает на то, что их следует использовать только детям старше двух лет, которым применение топических кортикостероидов не рекомендуется или ранее было безуспешным.

Использование пробиотиков для лечения АД было изучено в последние годы в ограниченном количестве пилотных исследований, и результаты различаются в зависимости от используемого пробиотика и возраста пациентов в исследовании (Soo-Pk Kim et al., 2014, *Ann Allergy Asthma Immunol.*, 113:217e226; Gerasimov S.V. et al., 2010, *Am J. Clin. Dermatol.*, 11:351e361; Farid R. et al., 2011, *Iran J. Pediatr.* 21:225e230). Самые последние исследования, включая метаанализ предыдущих публикаций, демонстрируют благотворный эффект от использования пробиотиков при определенных условиях, связанных с возрастом, бактериальным штаммом или комбинацией пробиотиков и используемой дозы (Farid R. et al., 2011, Cited ad supra; Van del Aa L.B. et al., 2010, *Clin. Exp. Allergy*, 40:795e804; Boyle R.J. et al., 2008, *Cochrane Database Syst Rev.*, 4:CD006135; Lee J. et al., 2008, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 121:116). Пробиотики, наиболее изученные в отношении лечения атопического дерматита и предотвращения новых вспышек заболевания, относятся к родам *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, так как они, похоже, дают лучшие результаты (Lee J. et al., 2008, Quoted ad supra).

Существует общеизвестная медицинская потребность в разработке качественных методов лечения, которые были бы безопасными и эффективными для долгосрочного лечения АД, поскольку атопический дерматит поражает значительную часть населения, заметно влияя на качество жизни, на которое могут влиять медицинские осложнения и т.д. Считается, что топические кортикостероиды являются очень эффективным лечением, но они подразумевают высокий риск неблагоприятных эффектов. Включение новых альтернатив топическим кортикостероидам (таких как ингибиторы кальциневрина) отвечает этой

потребности, хотя риск неблагоприятных эффектов этих новых лекарственных препаратов еще не определен. Исходя из этого предшествующий уровень техники показывает, что существует необходимость в разработке новых композиций, полезных при лечении АД, которые являются эффективными и не имеют типичных неблагоприятных эффектов лекарственных препаратов, используемых до настоящего времени.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что введение пробиотической композиции, которая модифицирует кишечную микробиоту индивидуума, страдающего атопическим дерматитом, вместе с обычным лечением неожиданно обеспечивает ремиссию и/или улучшение развития вспышек атопического дерматита у индивидуума. Как показано в примерах, сопровождающих настоящее описание, когда пробиотическую композицию (включающую микроорганизмы родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*) вводили вместе с обычным длительным лечением пациентам со вспышками атопического дерматита, наблюдали улучшение индекса SCORAD на 82,36%, тогда как улучшение этого показателя в случаях получения обычного длительного лечения, но без пробиотической композиции составило 28,4%; различия считали клинически и статистически значимыми. Кроме того, улучшение, вызванное пробиотической композицией, происходило с первого месяца приема, сохраняя или увеличивая различия при последующем анализе в течение 2 и 3 месяцев лечения. Кроме того, еще одним преимуществом лечения АД с помощью пробиотической композиции согласно настоящему изобретению является то, что применение кортикостероидов у пациентов в группе лечения указанной пробиотической композицией было ниже, чем в группе получавших плацебо.

В дополнение к этому благотворному влиянию на прогрессирование заболевания у пациентов со вспышкой атопического дерматита также наблюдали, что через три месяца после прекращения лечения вышеуказанной пробиотической композицией у индивидуумов, которые получали лечение указанной композицией, было меньше вспышек и были более длительные промежутки времени без заболевания, чем у тех пациентов, которые не получали лечения.

Таким образом, продемонстрирована полезность описанной в данном документе пробиотической композиции для лечения и/или профилактики атопического дерматита.

Авторы изобретения разработали ряд аспектов изобретения, которые будут подробно описаны ниже.

Композиция пробиотической композиции согласно настоящему изобретению и ее использование в лечении атопического дерматита (АД).

В одном аспекте настоящее изобретение относится к пробиотической композиции, которая содержит микроорганизмы *Bifidobacterium animalis* подвид *lactis* (далее *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* и *Lactobacillus casei*.

В настоящем изобретении термин "пробиотическая композиция" означает композицию, содержащую по меньшей мере один микроорганизм, который при приеме внутрь взаимодействует с метаболизмом индивидуума и оказывает на него благоприятное воздействие. В настоящем изобретении пробиотическая композиция содержит микроорганизмы *B. lactis*, *B. longum* и *L. casei*, далее именуемые "пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению". *B. lactis* представляет собой бактерию, обычно используемую в качестве пробиотика, встречающуюся в основном в йогурте и других молочных продуктах, включая детские смеси.

Научная классификация *B. lactis*. Царство: *Bacteria*, тип: *Firmicutes*, класс: *Actinobacteria*, порядок: *Bifidobacteria*, семейство: *Bifidobacteriaceae*, род: *Bifidobacterium*, вид: *Bifidobacterium animalis*, подвид *lactis*. *L. casei* представляет собой бактерию, обычно используемую в качестве пробиотика, встречающуюся в основном в йогурте и других молочных продуктах, включая детские смеси.

Научная классификация *L. casei*. Царство: *Bacteria*, тип: *Firmicutes*, класс: *Bacilli*, порядок: *Lactobacillales*, семейство: *Lactobacillaceae*, род: *Lactobacillus*, вид: *Lactobacillus casei*.

Кроме того, *B. longum* является грамотрицательной, каталазоотрицательной бактерией округлой формы, локализующейся в желудочно-кишечном тракте, где она продуцирует молочную кислоту.

Научная классификация *B. longum*. Царство: *Bacteria*, тип: *Firmicutes*, класс: *Actinobacteria*, порядок: *Bifidobacteria*, семейство: *Bifidobacteriaceae*, род: *Bifidobacterium*, вид: *Bifidobacterium longum*.

В конкретном варианте осуществления пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению содержит *B. lactis* CECT 8145 (и/или полученные из нее штаммы), *B. longum* CECT 7347 (и/или полученные из нее штаммы) и/или *L. casei* CECT 9104 (и/или полученные из нее штаммы).

Штамм CECT 8145 *B. lactis* был выделен из фекалий здорового ребенка на грудном вскармливании в возрасте до трех (3) месяцев. Этот штамм был депонирован 14 мая 2012 г. в соответствии с Будапештским договором в Испанской коллекции типовых культур в качестве Международного депозитарного органа (находящегося в Building 3 CUE, Parc Cientific Universitat de Valencia, C/ Catedratico Agustin Escardino, 9, 46980, Paterna (Valencia), SPAIN). Присвоенный номер депозита CECT 8145.

Штамм CECT 9104 *L. casei* был выделен из фекалий здорового ребенка на грудном вскармливании в возрасте до трех (3) месяцев. Этот штамм был депонирован 25 февраля 2016 г. в соответствии с Будапештским договором в Испанской коллекции типовых культур в качестве Международного депозитарного органа (находящегося в Building 3 CUE, Parc Cientific Universitat de Valencia, C/ Catedratico Agustin

Escardino, 9, 46980, Paterna (Valencia), SPAIN). Присвоенный номер депозита CECT 9104.

Штамм CECT 7347 *B. longum* был выделен из фекалий здорового ребенка на грудном вскармливании в возрасте до трех (3) месяцев и был депонирован 20 декабря 2007 г. в соответствии с Будапештским договором в Испанской коллекции типовых культур в качестве Международного депозитарного органа (находящегося в Building 3 CUE, Parc Cientific Universitat de Valencia, C/ Catedratico Agustin Escardino, 9, 46980, Paterna (Valencia), SPAIN). Присвоенный номер депозита был CECT 7347.

В настоящем изобретении также рассмотрены микроорганизмы или бактерии, полученные из микроорганизмов *B. lactis*, *B. longum* и *L. casei* (или их соответствующих штаммов *B. lactis* CECT 8145, *L. casei* CECT 9104 и *B. longum* CECT 7347) и которые могут быть частью пробиотической композиции согласно настоящему изобретению, поскольку они сохраняют способность уменьшать и/или улучшать развитие атопического дерматита у людей, страдающих этой патологией. Примерами штаммов или микроорганизмов, полученных из штаммов, входящих в состав пробиотической композиции согласно настоящему изобретению, могут быть мутанты и генетически модифицированные организмы, которые демонстрируют в своем геноме вариации по сравнению с геномом штаммов согласно настоящему изобретению, но которые не влияют на способность штаммов уменьшать и/или улучшать развитие атопического дерматита у индивидуума. Штаммы, полученные из *B. lactis*, *B. longum* и *L. casei* (или из штаммов *B. lactis* CECT 8145, *L. casei* CECT 9104 и *B. longum* CECT 7347) можно получить естественным образом или специально посредством мутагенеза, как известно в данной области, например, но без ограничения путем выращивания родительского штамма в присутствии мутагенных агентов или стрессоров или с помощью генной инженерии, направленной на модификацию, делецию и/или вставку определенных генов. Таким образом, как указано выше, в настоящем изобретении также предусмотрены генетически модифицированные организмы, полученные из *B. lactis*, *B. longum* и *L. casei* (или из штаммов *B. lactis* CECT 8145,

L. casei CECT 9104 и *B. longum* CECT 7347), которые сохраняют способность уменьшать и/или улучшать развитие атопического дерматита у индивидуума и вследствие этого подлежат использованию при лечении атопического дерматита. Пример теста для проверки того, обладает ли организм способностью уменьшать и/или улучшать развитие атопического дерматита у индивидуума, описан в прилагаемых примерах в данном документе.

Кроме того, в настоящем изобретении также предусмотрены клеточные компоненты, метаболиты и молекулы, секретируемые *B. lactis*, *B. longum* и *L. casei* или их соответствующими штаммами *B. lactis* CECT 8145, *L. casei* CECT 9104 и/или *B. longum* CECT 7347, а также композиции, содержащие указанные компоненты, будь то клетки, метаболиты или секретируемые молекулы, и их использование для лечения и/или профилактики атопического дерматита. Клеточные компоненты бактерий могут включать компоненты клеточной стенки (такие как без ограничения пептидогликан), нуклеиновые кислоты, компоненты мембран и прочее, такие как белки, липиды и углеводы и их комбинации (такие как липопротеины, гликолипиды или гликопротеины). Метаболиты включают любую молекулу, продуцируемую или модифицированную бактерией в результате ее метаболической активности во время роста, ее использования в технологических процессах или при хранении продукта (пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению). Примеры этих метаболитов включают без ограничения органические и неорганические кислоты, белки, пептиды, аминокислоты, ферменты, липиды, углеводы, липопротеины, гликолипиды, гликопротеины, витамины, соли, минеральные вещества и нуклеиновые кислоты. Секретируемые молекулы включают любую молекулу, секретируемую или выделяемую бактерией наружу во время роста, ее использования в технологических процессах (например, при переработке пищевых продуктов или лекарств) или при хранении продукта (пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению). Примеры этих молекул включают без ограничения органические и неорганические кислоты, белки, пептиды, аминокислоты, ферменты, липиды, углеводы, липопротеины, гликолипиды, гликопротеины, витамины, соли, минеральные вещества и нуклеиновые кислоты.

Как должно быть понятно специалистам в данной области техники, пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению можно составить для фармацевтического применения, т.е. для образования части фармацевтических продуктов, подлежащих введению субъекту (например перорально, местно и т.д.), и/или для введения с пищей, т.е. образования части пищевых продуктов, потребляемых в рационе субъекта. В настоящем изобретении указанная композиция предназначена для уменьшения, снижения, лечения и/или профилактики атопического дерматита. Вследствие этого в конкретном варианте осуществления пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению представляет собой фармацевтическую композицию и/или пищевую композицию.

Фармацевтическая композиция представляет собой набор компонентов или соединений, который образован, по меньшей мере, микроорганизмами *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности штаммами *B. lactis* CECT 8145, и/или *L. casei* CECT 9104, и/или *B. longum* CECT 7347 (или полученными из них штаммами) в любой концентрации, и который может дополнительно содержать один или несколько компонентов или соединений, обладающих любой биологической, фармакологической и/или ветеринарной активностью, которая при введении субъекту может дополнительно увеличивать, усиливать и/или стимулировать активность штаммов, включенных в пробиотическую композицию согласно настоящему

изобретению. Как должно быть понятно специалисту в данной области, дополнительные компоненты или соединения должны быть совместимы со штаммами пробиотической композиции согласно настоящему изобретению. В контексте настоящего изобретения термин "фармацевтическая композиция" также включает ветеринарные композиции.

Примеры полезных компонентов или соединений, используемых при лечении атопического дерматита, которые могут быть частью фармацевтической композиции, включают без ограничения традиционные H1-антигистаминные препараты (например, гидроксизин, клемастин и дексхлорфенирамин), недавно разработанные H1-антигистаминные препараты (например, дексфенфлурамин, лоратадин, цетиризин и производные) и ингибиторы кальциневрина (например, такролимус и пимекролимус).

В конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное средство.

Термин "вспомогательное средство" относится к веществу, которое способствует абсорбции любых компонентов или соединений пробиотической композиции согласно настоящему изобретению, а именно штаммов согласно настоящему изобретению, или стабилизирует компоненты или соединения и/или способствует получению фармацевтической композиции в смысле придания ей консистенции или вкуса, чтобы сделать ее более приятной. Таким образом, вспомогательные средства могут обладать функцией, в качестве примера, без ограничения связывать компоненты (например, крахмалы, сахара или целлюлозу), подслащивать, окрашивать, защищать активный ингредиент (например, изолировать его от воздуха и/или влаги), наполнять таблетку, капсулу или любую другую форму выпуска, или дезинтегрирующей функцией, способствующей растворению компонентов, без исключения других вспомогательных веществ, не перечисленных в этом абзаце. Вследствие этого термин "вспомогательное средство" определяется как материал, включенный в галеновые формы, который добавляют к активным ингредиентам или их ассоциациям для обеспечения возможности их получения и стабильности, модифицирования их органолептических свойств и/или определения физико-химических свойств фармацевтической композиции и ее биодоступности. "Фармацевтически приемлемое" вспомогательное средство должно обеспечивать активность компонентов или соединений фармацевтической композиции, т.е. должно быть совместимо со штаммами согласно настоящему изобретению.

"Галеновая форма" или "фармацевтическая форма" представляет собой конфигурацию, к которой активные ингредиенты и наполнители адаптированы для предоставления фармацевтической композиции или лекарственного препарата. Она определяется комбинацией формы, в которой фармацевтическая композиция представлена производителем, и формы, в которой ее вводят.

"Несущая среда" или "носитель" предпочтительно является инертным веществом. Функции носителя заключаются в том, чтобы облегчить включение других компонентов или соединений, обеспечить лучшую дозировку и/или введение и/или придать консистенцию и форму фармацевтической композиции. Следовательно, носитель представляет собой вещество, используемое в лекарственном препарате для разбавления любого из компонентов или соединений фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению до заданного объема или массы; или даже без разбавления этих компонентов или соединений он способен обеспечить лучшую дозировку и введение и/или придать консистенцию и форму лекарственному препарату. Когда форма выпуска является жидкой, фармацевтически приемлемым носителем является разбавитель. Носитель может быть природного или не природного происхождения. Примеры фармацевтически приемлемых носителей включают без ограничения воду, солевые растворы, спирт, растительные масла, полиэтиленгликоли, желатин, лактозу, крахмал, амилозу, стеарат магния, тальк, поверхностно-активные вещества, кремниевую кислоту, вязкий парафин, парфюмерное масло, моноглицериды и диглицериды жирных кислот, сложные эфиры жирных кислот *retroetrals*, гидроксиметилцеллюлозу, поливинилпирролидон и т.п.

Кроме того, вспомогательное средство и носитель должны быть фармакологически приемлемыми, т.е. вспомогательное средство и носитель разрешают и определяют то, что он не причиняет вреда субъекту, которому его вводят. Кроме того, носитель и/или несущая среда могут быть натуральными, т.е. природного происхождения, или ненатуральными, т.е. они могут встречаться или не встречаться в природе, но, если они являются естественными, они не встречаются в природе в комбинации со штаммами согласно настоящему изобретению.

В каждом случае форма выпуска фармацевтической композиции будет адаптирована к типу используемого введения. Таким образом, композиция может быть представлена в форме растворов или любой другой формы клинически допустимого введения и в терапевтически эффективном количестве. Фармацевтическая композиция может быть составлена в виде твердых, мягких или жидких препаратов, таких как таблетки, капсулы, порошки, гранулы, растворы, суппозитории, гели или микросферы. В конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция составлена для введения в жидкой форме или в твердой форме.

В другом конкретном варианте осуществления твердую лекарственную форму выбирают из группы, состоящей из таблеток, пастилок, конфет, жевательных таблеток, жевательных резинок, капсул, саше, порошков, гранул, частиц с покрытием или таблеток с покрытием, таблеток, пилюль, троше, таблеток и капсул, покрытых кишечнорастворимой оболочкой и диспергируемых полосок и/или пленок.

В другом конкретном варианте осуществления жидкую лекарственную форму выбирают из группы, состоящей из растворов для перорального приема, суспензий, эмульсий и сиропов.

Аналогично известны различные системы, которые можно использовать для введения с замедленным высвобождением пробиотической композиции согласно настоящему изобретению, включая, например, инкапсулирование ее в липосомы, микропузырьки, микрочастицы или микрокапсулы и т.п. Подходящие формы с замедленным высвобождением, а также материалы и способы их получения хорошо известны в данной области. Таким образом, перорально вводимая форма пробиотической композиции согласно настоящему изобретению находится в форме с замедленным высвобождением, дополнительно включающей по меньшей мере одно покрытие или матрицу. Покрытие или матрица с замедленным высвобождением включает без ограничения природные полусинтетические или синтетические полимеры, нерастворимые в воде или модифицированные, воски, жиры, жирные спирты, жирные кислоты, природные, полусинтетические или синтетические пластификаторы или комбинацию двух или более из всего вышеупомянутого. Энтеросолюбильные покрытия можно наносить, используя обычные способы, известные специалистам в данной области.

В дополнение к описанному выше настоящее изобретение также включает возможность, что пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению можно вводить субъекту вместе с другими компонентами или соединениями, хотя они и не являются частью пробиотической композиции. Примеры таких компонентов или соединений были упомянуты в предыдущих абзацах.

В случае когда пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению составлена в виде питательной композиции, указанная питательная композиция может представлять собой пищевой продукт или может быть включена в пищевой продукт или продукт питания, предназначенный для потребления как человеком, так и животным. Таким образом, в конкретном варианте осуществления питательную композицию выбирают из пищевого продукта (который может быть пищевым продуктом для конкретных пищевых целей или лечебным пищевым продуктом) и пищевой добавки.

В настоящем изобретении термин "пищевая композиция" относится к тому пищевому продукту, который независимо от предоставленных питательных веществ субъекту, который его потребляет, благотворно влияет на одну или несколько функций организма, чтобы обеспечить указанному субъекту более хорошее здоровье и самочувствие. В настоящем изобретении указанная пищевая композиция предназначена для облегчения, уменьшения, лечения и/или профилактики атопического дерматита.

Термин "добавка", синонимичный любому из терминов "добавка к рациону", "нутритивная добавка", "пищевая добавка", "алиментарная добавка" или "алиментарный комплекс", относится к продуктам или препаратам, цель которых заключается в дополнении обычной диеты и которые состоят из источников концентрированных питательных веществ или других веществ, оказывающих питательное или физиологическое воздействие на субъекта. В настоящем изобретении "вещество", которое оказывает питательное или физиологическое воздействие на индивидуума при приеме пищевого дополнения, представляет собой микроорганизмы *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности штаммы *B. lactis* CECT 8145, и/или *L. casei* CECT 9104, и/или *B. longum* CECT 7347, которые являются частью пробиотической композиции согласно настоящему изобретению. Пищевая добавка может быть в отдельной или комбинированной форме и может продаваться в виде лекарственной формы, т.е. в капсулах, пилюлях, таблетках и других аналогичных формах, саше с порошком, ампулах с жидкостями и флаконах для распыления капель и других подобных формах, таких как жидкости и порошки, предназначенные для приема в разовой дозе.

Существует широкий спектр питательных веществ и других элементов, которые могут присутствовать в пищевых добавках, включая без ограничения витамины, минералы, аминокислоты, незаменимые жирные кислоты, клетчатку, ферменты, растения и растительные экстракты. Поскольку их роль заключается в дополнении обеспечения питательными веществами в рационе, их не следует использовать в качестве замены сбалансированного рациона, а потребление не должно превышать суточную дозу, конкретно/специально рекомендованную врачом или диетологом. Пробиотическая композиция также может быть частью так называемой "пищи для особых групп", т.е. пищевых продуктов, которые удовлетворяют определенным потребностям в питании.

Примеры пищевых продуктов, которые могут содержать пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению (микроорганизмы *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности штаммы *B. lactis* CECT 8145, и/или *L. casei* CECT 9104, и/или *B. longum* CECT 7347 (или полученные из них штаммы)), включают без ограничения пищевые, молочные продукты, овощные продукты, мясные продукты, закуски, шоколад, напитки, детское питание, злаки, жареные продукты, промышленные хлебобулочные изделия и печенье. Примеры молочных продуктов включают без ограничения продукты, полученные из ферментированного молока (например, без ограничения, йогурт или сыр) или неферментированного молока (например, но без ограничения мороженое, сливочное масло, маргарин или сыворотку). Растительный продукт представляет собой, например, без ограничения злаки в любой форме выпуска, ферментированные (например, без ограничения соевый йогурт или овсяный йогурт) или неферментированные, и снеки. Напитком может быть без ограничения неферментированное молоко. В конкретном варианте осуществления пищевой продукт или пищу выбирают из группы, состоящей из фруктовых или овощных соков, мороженого, детской смеси, молока, йогурта, сыра, ферментированного молока, сухого молока, злаков,

хлебобулочных изделий, продуктов на основе молока, мясных продуктов и напитков.

Помимо этого, пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению может содержать другие микроорганизмы в дополнение к *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности штаммы *B. lactis* CECT 8145, и/или *L. casei* CECT 9104, и/или *B. longum* CECT 7347. Таким образом, в конкретном варианте осуществления пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит микроорганизм, выбранный из группы, состоящей из *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Saccharomyces* sp., *Kluyveromyces* sp. и их комбинации.

В другом еще более конкретном варианте осуществления *Lactobacillus* sp. представляет собой *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* подвид *bulgaricus*, *L. kefir*, *L. parakefir*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. paraplantarum* или *L. reuteri*; *Streptococcus* sp. представляет собой *St. thermophilus*; *Bifidobacterium* sp. представляет собой *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. catenulatum*, *B. adolescentis* или *B. pseudocatenulatum*; *Saccharomyces* представляет собой *S. cerevisiae* или *S. boulardii*; или *Kluyveromyces* sp. представляет собой *K. lactis* или *K. marxianus*.

В другом конкретном варианте осуществления пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению вводят субъекту посредством диеты.

Как должно быть понятно специалисту в данной области, микроорганизмы *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности штаммы *B. lactis* CECT 8145, *L. casei* CECT 9104 и/или *B. longum* CECT 7347, должны присутствовать в пробиотической композиции согласно настоящему изобретению в терапевтически эффективном количестве, чтобы они могли оказывать свой эффект ослабления, уменьшения, лечения и/или профилактики атопического дерматита.

В настоящем изобретении "терапевтически эффективное количество" представляет собой такое количество компонента или соединения фармацевтической композиции, которое при введении субъекту является достаточным для получения желаемого эффекта. Указанный компонент или соединение фармацевтической композиции относится к микроорганизмам *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности штаммам *B. lactis* CECT 8145, *L. casei* CECT 9104 и/или *B. longum* CECT 7347. Как известно специалистам в данной области, терапевтически эффективное количество может варьировать в зависимости, например, от возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и диеты субъекта, а также от способа и времени введения, скорости выведения или комбинации лекарственных препаратов (среди прочих факторов).

Таким образом, в конкретном варианте осуществления общая концентрация микроорганизмов *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности штаммов *B. lactis* CECT 8145, и/или *L. casei* CECT 9104, и/или *B. longum* CECT 7347, в композиции составляет между 10^3 и 10^{12} КОЕ, предпочтительно 10^9 КОЕ. В другом конкретном варианте осуществления вводимая доза микроорганизмов *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum*, в частности *B. lactis* CECT 8145, *L. casei* CECT 9104 и/или *B. longum* CECT 7347, в композиции составляет между 10^6 и 10^{12} КОЕ/день, предпочтительно 10^9 КОЕ/день, и в другом еще более конкретном варианте осуществления режим введения по меньшей мере один раз в день, конкретно два раза в день и более конкретно три раза в день по одному с каждым приемом пищи (завтрак, обед и ужин).

В другом конкретном варианте осуществления концентрацию *B. longum*, конкретно *B. longum* штамма CECT 7347, относительно общей концентрации микроорганизмов, присутствующих в композиции, выбирают из любого из следующих значений: 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80%. В другом конкретном варианте осуществления концентрацию *B. lactis*, конкретно *B. lactis* штамма CECT 8145, относительно общей концентрации микроорганизмов, присутствующих в композиции, выбирают из любого из следующих значений: 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80%. В другом конкретном варианте осуществления концентрацию *L. Casei*, в частности штамма *L. casei* CECT 9104, относительно общей концентрации микроорганизмов, присутствующих в композиции, выбирают из любого из следующих значений: 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80%. Как должно быть понятно эксперту, композиция согласно настоящему изобретению содержит любую комбинацию концентраций для каждого микроорганизма, описанного выше.

В другом конкретном варианте осуществления концентрация *B. longum* относительно общей концентрации микроорганизмов, присутствующих в композиции, составляет по меньшей мере между 25 и 45%, предпочтительно по меньшей мере 35%; концентрация *B. lactis* относительно общей концентрации микроорганизмов составляет по меньшей мере между 25 и 45%, предпочтительно по меньшей мере 35%; и/или концентрация *L. casei* относительно общей концентрации микроорганизмов составляет между 20 и 40%, предпочтительно 30%.

Пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению является полезной в лечении и/или профилактике атопического дерматита у индивидуума, а также улучшении развития атопического дерматита после приостановки приема пробиотической композиции, описанной в данном документе.

Таким образом, другая цель, описанная в данном документе, относится к пробиотической композиции, описанной в данном документе, для применения в качестве лекарственного препарата.

Термин "лекарственный препарат", как используется в настоящем документе, относится к любому веществу, используемому для профилактики, диагностики, облегчения, лечения или излечения заболевания у людей и животных. В контексте настоящего изобретения заболевание представляет собой АД.

Другая цель, описанная в данном документе, относится к пробиотической композиции, такой как

описана выше, в лечении и/или профилактике AD у индивидуума, страдающего этим заболеванием.

В настоящем изобретении термин "субъект" эквивалентен термину "индивидуум"; так что оба термина можно использовать в данном документе взаимозаменяемо.

"Субъект" означает, помимо любого индивидуума, любое животное, принадлежащее к любому виду. Примеры субъектов включают без ограничения животных, представляющих коммерческий интерес, таких как птицы (куры, страусы, цыплята, гуси, куропатки и т.д.); кролики, зайцы, домашние животные (собаки, кошки и т.д.); овцы, крупный рогатый скот типа коз (козы и т.д.); свиньи (кабаны, поросята и т.д.); домашний скот типа лошадей (лошади, пони и т.д.); крупный рогатый скот (быки, коровы, вола и т.д.); животные, представляющие охотничий интерес, такие как олени, лань, северные олени и т.д.; и люди. Однако в конкретном варианте осуществления субъектом является млекопитающее, предпочтительно млекопитающим является человек любой расы, пола или возраста.

В настоящем изобретении термин "профилактика" означает предотвращение возникновения заболевания или патологического состояния у индивидуума, особенно когда индивидуум имеет предрасположенность к патологическому состоянию, но ему еще не был поставлен диагноз. В настоящем изобретении заболевание или патологическое состояние представляет собой вспышку atopического дерматита.

В настоящем изобретении термин "лечить" или "лечение" включает подавление заболевания или патологического состояния, т.е. прекращение его развития; облегчение заболевания или патологического состояния, т.е. инициирование регрессии заболевания или патологического состояния; и/или стабилизацию заболевания или патологического состояния у индивидуума.

В настоящем изобретении заболевание или патологическое состояние представляет собой atopический дерматит.

В настоящем изобретении под термином "atopический дерматит" (AD) понимают воспалительные дерматозы, зуд, хроническое течение, характеризующиеся развитием экзематозных поражений с характерным рисунком распределения, который поражает индивидуумов с кожной гиперреактивностью к различным факторам окружающей среды, которые безвредны индивидуумов без atopии. Как хронический воспалительный процесс возникают вспышки воспалительного характера, обусловленные значительной гиперактивностью кожи, вызывающей поражения как в области складок кожи, так и в зонах растяжения по типу острой или подострой экземы. Atopический дерматоз может проявляться во многих формах и местах, не являющихся кожей.

Способ лечения и/или профилактики воспалительных кожных заболеваний.

Другой аспект изобретения относится к способу лечения atopического дерматита у субъекта, далее к способу лечения согласно настоящему изобретению, включающему введение пробиотической композиции, описанной в настоящем изобретении, индивидууму, у которого имеется atopический дерматит.

Все конкретные термины, определения и варианты осуществления предыдущих аспектов изобретения применимы к способу лечения согласно настоящему изобретению.

На всем протяжении описания и формулы изобретения слово "содержать" и его варианты не предназначены для исключения других технических характеристик, добавок, компонентов или этапов. Для специалистов в данной области техники другие цели, преимущества и характеристики изобретения станут частично очевидными из описания и частично при осуществлении практического применения изобретения. Следующие примеры и фигуры представлены в качестве иллюстрации и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 показана диаграмма, показывающая анализ главных компонентов микробиологических профилей образцов кала, взятых у пациентов с atopическим дерматитом (квадратный символ и черный) по сравнению со здоровыми индивидуумами, принадлежащими к enterотипу 1 (круглый символ и темно-серый), к enterотипу 2 (треугольный символ и серый) и enterотипу 3 (ромбовидный символ и светло-серый).

На фиг. 2 показана диаграмма, демонстрирующая анализ вариабельности образцов стула пациентов с дерматитом по сравнению со здоровой популяцией в каждом из enterотипов. На фигуре показана статистическая значимость после применения критерия Уилкоксона.

На фиг. 3 показана диаграмма, демонстрирующая анализ главных компонентов пациентов с дерматитом или классифицированных как принадлежащие к enterотипу 1 (квадратный символ и черный) по сравнению с образцами из здоровой популяции enterотипа 1 (круглый символ и серый). Категории, в наибольшей степени представленные в образцах, расположенных в верхней правой части фигуры, показаны черным, тогда как категории, недостаточно представленные в этом расположении, показаны серым. Что касается образцов, расположенных в левом нижнем углу, тенденция противоположна: менее многочисленные отмечены черным, а многочисленные отмечены серым.

На фиг. 4 показана диаграмма, демонстрирующая анализ главных компонентов пациентов с дерматитом или классифицированных как принадлежащие к enterотипу 2 (квадратный символ и черный) по сравнению с образцами из здоровой популяции enterотипа 2 (круглый символ и серый). Категории, в наибольшей степени представленные в образцах, расположенных в верхней правой части фигуры, пока-

заны черным, тогда как категории, недостаточно представленные в этом расположении, показаны серым. Что касается образцов, расположенных в левом нижнем углу, тенденция противоположна: менее многочисленные отмечены черным, а многочисленные отмечены серым.

На фиг. 5 показана диаграмма, демонстрирующая анализ главных компонентов пациентов с дерматитом или классифицированных как принадлежащие к энтеротипу 3 (квадратный символ и черный) по сравнению с образцами из здоровой популяции энтеротипа 3 (круглый символ и серый). Категории, в наибольшей степени представленные в образцах, расположенных в верхней правой части фигуры, показаны черным, а категории, недостаточно представленные в этом расположении, показаны серым. Что касается образцов, расположенных в левом нижнем углу, тенденция противоположна: менее многочисленные отмечены черным, а многочисленные отмечены серым.

На фиг. 6 показаны результаты индекса SCORAD через месяц после начала лечения пробиотической композицией согласно настоящему изобретению или плацебо. Результаты демонстрируют абсолютное значение SCORAD для каждой группы лечения (фиг. 6A) и процент (%) снижения индекса SCORAD в течение курса лечения в обеих группах (фиг. 6B). V3, обследование через 1 месяц.

Группа А: группа, принимающая плацебо;

группа В: группа, принимающая пробиотическую композицию.

На фиг. 7 показаны результаты индекса SCORAD через два месяца после начала лечения пробиотической композицией согласно настоящему изобретению или плацебо. Результаты демонстрируют абсолютное значение SCORAD для каждой группы лечения (фиг. 7A) и процент (%) снижения индекса SCORAD в течение курса лечения в обеих группах (фиг. 7B). V5, обследование через 2 месяца.

Группа А: группа, принимающая плацебо;

группа В: группа, принимающая пробиотическую композицию.

На фиг. 8 показаны результаты индекса SCORAD через три месяца (окончание исследования) после начала лечения пробиотической композицией согласно настоящему изобретению или плацебо. Результаты демонстрируют абсолютное значение SCORAD для каждой группы лечения (фиг. 8A) и процент (%) снижения индекса SCORAD в течение курса лечения в обеих группах (фиг. 8B). V7, обследование через 3 месяца.

Группа А: группа, принимающая плацебо;

группа В: группа, принимающая пробиотическую композицию.

На фиг. 9 показан процент (%) улучшения индекса SCORAD в течение периода испытания, измеренный через один месяц, два месяца и три месяца (окончание исследования) по сравнению с исходным уровнем. Различия между двумя группами лечения были статистически значимыми, начиная с первого месяца, и эти различия увеличились через два и три месяца испытания. Пунктирная линия показывает группу, принимающую пробиотическую композицию; непрерывная линия - группу, принимающую плацебо.

На фиг. 10 показаны тенденции индекса SCORAD во времени, измеренного через один месяц, два месяца и три месяца (окончание исследования) после исходного уровня. Различия между двумя группами лечения являются статистически значимыми. Пунктирная линия показывает группу, принимающую пробиотическую композицию; непрерывная линия показывает группу плацебо.

На фиг. 11 показана тенденция числа пациентов, страдающих новой вспышкой атопического дерматита (фиг. 11A), общее количество пациентов с новыми вспышками атопического дерматита (фиг. 11B) и процент пациентов, не имеющих новых вспышек (фиг. 11C) в течение трех месяцев наблюдения после прекращения экспериментального лечения плацебо или пробиотической композицией согласно настоящему изобретению. Различия между двумя экспериментальными группами статистически значимы при трехмесячной оценке после начала мониторинга для трех проанализированных переменных. Черная линия - пациенты, получавшие плацебо; серая линия - пациенты, получившие пробиотическую композицию.

Примеры

Изобретение будет проиллюстрировано посредством тестов, проведенных авторами изобретения, которые показывают свойства пробиотической композиции согласно настоящему изобретению.

Пример 1. Определение бактериальной микробиоты у пациентов с AD.

I. Материалы и методы.

На основании образцов кала 49 пациентов с дерматитом провели экстракцию генетического материала (ДНК) с использованием комбинации механического и ферментативного разрушения клеточных стенок и мембран с целью увеличения выхода экстракции, а не изменения присутствия бактерий с клеточной стенкой (Грам+). Генетический материал, полученный посредством экстракции, анализировали для оценки качества и количества с использованием Nanodrop 2000 ThermoScientific для проверки соотношений 260/280 и 260/230, показывающих качество экстракции (наличие ингибиторов ПЦР, пигмента и т.д.). Позже, после проверки их качества, произвели масштабное секвенирование библиотек, захватывая гипервариабельную область V3-V4 гена 16S рПНК бактерии (на основании Klindworth A. et al. (2013), Nucleic Acids Res., 41: e1) в соответствии с протоколом, описанным Illumina для анализа микробной композиции на основе захвата 16S рПНК. Каждую библиотеку количественно определяли с помощью Quant-iT PicoGreen от Invitrogen и эквимольно смешивали для последующего секвенирования.

Образцы секвенировали на платформе MiSeq в комбинации из 300 циклов "спаренных концов". Полученные файлы FASTQ обрабатывали для обеспечения высококачественного анализа последовательности. Для этого был проведен контроль качества, состоящий из

1) соединения концов для воссоздания уникальных последовательностей с помощью программы 'pear' v0.9.6. (Zhang J. et al. (2014), *Bioinformatics* 30(5):614-20);

2) элиминации адаптеров для секвенирования и праймеров захвата из гипервариабельных областей V3 и V4 с помощью программы cutadapt версии 1.9.1. (Martin M. (2010), *EMBnet.journal* [S.L.], 17(1):10-12, ISSN 2226-6089);

3) элиминации низкокачественных последовательностей с использованием FASTX-ToolKit версии 0.91;

4) элиминации химер, полученных посредством ПЦР с использованием программы UCHIME (декабрь 2015 г.) (Edgar R.C. et al. (2011) *Aug* 15, 27 (16):2194-200) и последней базы данных химер.

Полученные в результате образцы сравнивали с базой данных последовательностей 16S рРНК (NCBI) с использованием локального выравнивания типа BLAST (Altschul S.F. et al. (1990), *J. Mol. Biol.*, 215:403-410).

Каждую из последовательностей, для которых был получен показатель девяносто пять процентов (95%) идентичности, проверяли на разных таксономических уровнях: тип, семейство, род и вид.

Статистический пакет R использовался для статистики и для построения графиков для анализа главных компонент (PCA).

Интересно отметить, что в микробных популяциях пищеварительного тракта каждого человека наблюдаются значительные различия; эпидемиологические исследования показывают, что микробиоту почти всех из них можно классифицировать как принадлежащую к трем различным категориям, известным как энтеротипы (Arumugam et al. (2011), *Nature*, 473:174-180). Эта классификация основана на преобладании в каждом из этих трех энтеротипов членов родов *Bacteroides*, *Prevotella* или *Ruminococcus*. Энтеротип 1 (ent1) упоминают, когда преобладает род *Bacteroides*, энтеротип 2 (ent2), если преобладает род *Prevotella*, и энтеротип 3 (ent3), когда преобладает род *Ruminococcus* (Dave et al. (2012), *Trans. Res.*, 160, 246-257).

II. Результаты.

Как упоминалось выше, проводили анализ микробной композиции в образцах стула от индивидуумов, страдающих атопическим дерматитом, в сравнении с образцами стула от здоровых индивидуумов.

Результаты показывают, что, как видно на фиг. 1, микробиологические профили образцов от пациентов с АД ближе к здоровым индивидуумам с энтеротипом 3, чем к другим здоровым индивидуумам. Как показано в левом верхнем углу вышеупомянутой фиг. 1, пациенты с АД (квадратный и черный символ) сгруппированы вместе со здоровыми индивидуумами с энтеротипом 3 (ромбовидный и светло-серый символ), но с большей дисперсией в случае пациентов с АД, чем у здоровых индивидуумов с энтеротипом 3. Напротив, индивидуумы в здоровой популяции с энтеротипом 1 (круглый темно-серый символ) или энтеротипом 2 (треугольный серый символ) сгруппированы в верхней части слева направо и на левой стороне сверху вниз соответственно. Также примечательно, что образцы, сгруппированные в правой части графика, имеют большее содержание рода *Bacteroides* и меньшее *Prevotella* и *Faecalibacterium*, тогда как образцы, сгруппированные в верхней части графика на фиг. 1, представляют очевидное отсутствие *Prevotella*; следовательно, образцы от здоровых пациентов с энтеротипом 2 (большее содержание видов рода *Prevotella*) расположены в нижнем левом углу и демонстрируют увеличение *Faecalibacterium* и *Ruminococcus*. Эти данные позволяют авторам изобретения утверждать, что микробиота пациентов с АД ближе к таковой у здоровых индивидуумов с энтеротипом 3, но с другой композицией и вариабельностью организмов.

Эта различная вариабельность и композиция микроорганизмов среди здоровых индивидуумов с энтеротипом 3 и пациентов с АД проявляется более детально, когда вариабельность бактериальных популяций анализируют в образцах здоровой популяции (с каждым из трех отдельных энтеротипов) для образцов пациентов с АД с помощью индекса Шеннона (фиг. 2). Как показано на фиг. 2, в целом пациенты с АД имеют большую вариабельность по сравнению со здоровыми индивидуумами, имея средний и межквартильный диапазон 2,97 (от 2,84 до 3,06) для пациентов с атопическим дерматитом и 1,99 (от 1,37 до 2,52); 2,14 (от 1,50 до 2,62) и 2,23 (от 1,91 до 2,57) для здоровых людей с энтеротипами 1, 2 и 3 соответственно. В частности, у пациентов с АД наблюдается значительно более высокая вариабельность бактерий, чем у любого из энтеротипов здоровых индивидуумов, потому что при сравнении вариабельности микроорганизмов пациентов с АД с таковой у здоровой популяции с различными энтеротипами во всех случаях $p < 0,0001$.

Чтобы определить бактерии, которые отличают здоровую популяцию от популяции с атопическим дерматитом, авторы изобретения приступили к классификации пациентов с атопическим дерматитом исходя из преобладания *Bacteroides* (ent1), *Prevotella* (ent2) или *Ruminococcus* (ent3). В дальнейшем авторы изобретения исследовали, были ли различия между каждым из различных энтеротипов здоровой популяции в отношении различных энтеротипов у людей с АД. Сначала из 49 пациентов с АД 25 классифицировали как ent1, двух как ent2 и 22 как ent3. Аналогичным образом, из 324 здоровых субъектов 298

классифицировали как ent1, 21 как ent2 и 5 как ent3. Затем вариабельность бактерий анализировали в пределах каждого энтеротипа, 1, 2 или 3, среди пациентов с AD по сравнению со здоровыми субъектами.

На фиг. 3 показана вариабельность бактерий среди здоровых субъектов по сравнению с пациентами с AD, все с энтеротипом 1. Как показано на фиг. 3, здоровые индивидуумы имеют большее содержание *Bacteroides*, чем пациенты с AD, тогда как пациенты с AD демонстрируют большее содержание родов *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium* и особенно низкое содержание видов рода *Alistipes*.

На фиг. 4 показана вариабельность бактерий среди здоровых субъектов по сравнению с пациентами с AD, все с энтеротипом 2. Что касается родов бактерий, в этом случае невозможно отдифференцировать пациентов с AD с энтеротипом 2 от здоровых индивидуумов с таким же энтеротипом. С другой стороны, эта фигура демонстрирует низкий уровень пациентов с AD, которых классифицировали как энтеротип 2.

Как и в случае здоровых индивидуумов и пациентов с AD с энтеротипом 1, у пациентов с AD, классифицированных как энтеротип 3 (фиг. 5), имеются заметные различия между пациентами с AD по сравнению со здоровыми индивидуумами. Как показано на фиг. 5, у пациентов с AD имеется меньше видов, относящихся к роду *Ruminococcus*, чем у здоровых пациентов, а также меньше видов, принадлежащих к роду *Faecalibacterium*.

Принимая во внимание все результаты, показанные выше, очевидно, что микробиота пациентов с AD отличается по композиции и вариабельности от микробиоты здоровой популяции. Также было продемонстрировано, что меньше пациентов с AD принадлежит к энтеротипу 2 и, кроме того, что пациенты с AD также демонстрируют увеличенную вариабельность микроорганизмов, но с меньшим количеством бактерий, принадлежащих к видам важных родов в каждом энтеротипе, в частности родов *Bacteroides* и *Ruminococcus* для энтеротипов 1 и 3 соответственно.

Пример 2. Анализ эффективности пробиотической композиции согласно настоящему изобретению в профилактике и/или лечении атопического дерматита (AD).

I. Материалы и методы.

Чтобы оценить эффективность пробиотической композиции согласно настоящему изобретению в уменьшении симптомов вместе с использованием топических кортикостероидов в лечении атопического дерматита, провели рандомизированное пилотное клиническое, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование в группе из 20 пациентов, страдающих атопическим дерматитом, в возрасте между 4 и 17 годами.

Для этого пациентам, включенным в исследование, был поставлен диагноз атопический дерматит в соответствии с критериями Ханифина и Райка (Hanifin J.M. et al., *Acta Derm Venereol.*, 1980, 92:44-7), отвечающими всем критериям включения и ни одному из критериев исключения, установленных в исследовании. Для лечения вспышек атопического дерматита участники исследования также использовали или могли использовать топические кортикостероиды наряду с другими активными ингредиентами, используемыми в качестве обычного лечения, такими как смягчающие средства, системные кортикостероиды, антигистаминные препараты и т.д.

Каждого пациента определяли либо в группу лечения, либо в группу плацебо, используя стратифицированную рандомизацию 1:1 с блоками с учетом переменных: пол, возраст, семейный анамнез атопии или атопического дерматита первой степени кровного родства и начало атопического дерматита в возрасте до четырех лет.

Пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению содержит *Bifidobacterium lactis* CECT 8145, *Bifidobacterium longum* CECT 7347 и *Lactobacillus casei* CECT 9104, составленные на основе тапиоки с сахаром и мальтодекстрина с содержанием 5×10^{10} КОЕ/г.

Форма и внешний вид вводимого плацебо были такими же, как у композиции согласно настоящему изобретению, но содержали только тапиоку, мальтодекстрин и сахар.

Режим дозирования пробиотической композиции согласно настоящему изобретению или плацебо составлял одну капсулу в день.

Для лечения вспышек атопического дерматита, которые могли возникнуть у пациентов, включенных в исследование, в качестве топического кортикостероида использовали метилпреднизолон ацепонат, и продолжительность такого лечения не превышала двух недель. Дефлазакорт назначали, если требовалось лечение системными кортикостероидами. Для лечения зуда использовали дезлоратадин, а в случаях инфицированного атопического дерматита использовали обычно применяемый антибиотик, такой как фузидовая кислота.

Период лечения длился двенадцать недель с момента набора пациентов до последнего обследования. После обследования при включении в исследование (исходный уровень) и назначения лечения (группа лечения или плацебо) были запрограммированы семь обследований, которые проводились на 4, 8 и 12 неделе от начала лечения композицией согласно настоящему изобретению или плацебо. Во время этих обследований оценивали индекс SCORAD, и на 2, 6 и 10 неделях обновляли журнал сбора данных (DCL) каждого пациента.

Все лекарства, принимаемые пациентом во время испытания, регистрировали в медицинской документации пациента и в DCL с указанием доз, пути введения и продолжительности лечения (даты начала и окончания) и включение лекарства. Кроме того, в DCL регистрировали каждое обследование, а так-

же число возвращенных капсул. В табл. 1 показаны исходные демографические и клинические характеристики пациентов в каждой группе лечения. В табл. 2 показана график испытания.

Таблица 1

Исходные демографические и клинические характеристики пациентов в каждой группе лечения

	Лечение	Среднее	SD	SEM
Возраст	Плацебо	8,96	3,940	0,804
	Композиция	9,35	3,577	0,702
SCORAD	Плацебо	31,6417	5,05129	1,03109
	Композиция	33,3077	3,51351	,68906
Исходный уровень IgE	Плацебо	292,08	636,537	129,933
	Композиция	428,44	723,861	144,772
Исходный уровень эозин.	Плацебо	4,73	4,274	0,872
	Композиция	4,96	5,799	1,160
Всего кортикостероидов V2*	Плацебо	3,68	4,224	0,901
	Композиция	3,00	3,240	0,648
Всего антигистаминных препаратов V2*	Плацебо	0,32	0,780	0,166
	Композиция	1,28	2,072	0,414

* Дни лечения через 2 недели;

SD: стандартное отклонение;

SEM: стандартная ошибка среднего.

Таблица 2

Протокол клинического испытания.

Обследования	0/1	2	3	4	5	6	7
Недели	0	2	4	6	8	10	12
Критерии включения/исключения	X						
Подписанное информированное согласие	X						
Медицинская карта	X						
Физикальное обследование	X		X		X		X
Тест на беременность	X						X
Дополнительные исследования	X			X			
SCORAD	X		X		X		X
Лечение (пробиотическая композиция или плацебо)	X		X		X		
Журнал сбора данных		X		X		X	X
Проведение лечения	X		X		X		
Возврат и подсчет неизрасходованного препарата			X		X		X
Оценка неблагоприятных событий		X	X	X	X	X	X

Все статистические анализы, выполненные для получения окончательных результатов, показанных ниже, были выполнены с использованием программного обеспечения SPSS 20.0.

Кроме того, испытание проводили в соответствии с Хельсинской декларацией с поправками, внесенными в последующие всемирные ассамблеи. Медицинская карта и письмо с информированным согласием были получены для всех участников (подписаны пациентом или его/ее опекуном или законным

представителем) в соответствии с Хельсинской декларацией и одобрены комитетом по этике и институциональным исследованиям.

II. Результаты

Сначала авторы изобретения проанализировали, были ли образцы, включенные в каждую исследуемую группу, т.е. в группу плацебо и группу, получавшую пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению, однородными. Табл. 3 демонстрирует, что это требование было выполнено, поскольку не было обнаружено различий между любыми переменными, проанализированными для каждой исследуемой группы.

Таблица 3

Однородность двух образцов. Статистика исследования^a

	Возраст	SCORAD	Всего кортикостероидов V2*	Всего антигистаминных препаратов V2*
U-критерий Манна-Уитни	286,500	260,500	271,000	223,500
Критерий Уилкоксона	586,500	560,500	596,000	476,500
Z-тест	-0,497	-1,000	-0,088	-1,435
Асимптотическая значимость (двусторонняя)	0,619	0,317	0,930	0,151

^a Группировка переменных: нет различий по основным переменным на исходном уровне.

* Дни лечения через 2 недели.

Как упомянуто выше, средние значения (среднее значение и медиана) и $\pm$ стандартное отклонение (SD) рассчитывали для глобальных данных на исходном уровне, через один месяц и через два и три месяца лечения. Значения, представленные пациентом в каждый из этих моментов времени, сравнивали со значениями, взятыми в начале испытания с использованием теста Уилкоксона.

Эффективность композиции согласно настоящему изобретению через месяц после начала лечения.

Через один месяц лечения проанализировали индекс SCORAD, сравнивая значения между группами, а также исходные значения. Табл. 4 показывает изменения в значении абсолютных чисел и в процентах.

Таблица 4

Индекс SCORAD через один месяц после начала лечения пробиотической композицией согласно настоящему изобретению или плацебо

Лечение		SCORAD через 1 месяц	% изменения SCORAD через 1 месяц
Плацебо	Среднее значение	25,8500	16,0015
	СО	8,02355	23,17611
	Медиана	24,8500	18,0150
Композиция	Среднее значение	19,6182	41,7586
	СО	7,33580	19,27088
	Медиана	19,5000	40,8150
U-критерий Манна-Уитни		124,500	79,000
Критерий Уилкоксона		377,500	289,000
Z-тест		-2,406	-3,551
Асимптотическая значимость (двусторонняя)		0,016	0,000

Как показывают результаты в табл. 4 и на фиг. 6, после месяца лечения были значительные различия в индексе SCORAD для группы плацебо по сравнению с группой, получавшей пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению. На фиг. 7 и 8 показаны изменения индекса SCORAD при обследовании, соответствующих двум месяцам (фиг. 7) и трем месяцам (фиг. 8) лечения по сравнению с исходным уровнем между группой, получавшей пробиотическую композицию согласно настоящему

изобретению, и группой плацебо.

На фиг. 9 показано, что группа лечения композицией согласно настоящему изобретению имеет более низкий индекс SCORAD, измеренный через один месяц, два месяца и три месяца от исходного уровня, по сравнению с группой плацебо. Как видно на фиг. 9, различия между двумя группами лечения являются статистически значимыми уже на первом месяце лечения, причем эти различия увеличиваются через 2 (V5) и 3 (V7) месяца от исходного уровня.

На фиг. 10 показаны тенденции индекса SCORAD, измеренные через один (V3), два (V5) и три (V7) месяца после начала испытания. Различия между группой, получавшей лечение композицией согласно настоящему изобретению, и группой, получавшей плацебо, были статистически значимыми, демонстрируя преимущества использования композиции при лечении пациентов с AD.

Что касается применения топических кортикостероидов в каждой исследуемой группе, то через один месяц лечения не наблюдалось статистически значимых различий между двумя группами лечения для разного количества дней применения топических кортикостероидов (табл. 5) при сравнении обеих групп лечения с помощью теста Уилкоксона с уровнем статистической значимости в пять процентов (5%). Напротив, наблюдалась тенденция, когда топические кортикостероиды не использовали, чего было больше в группе, получавшей пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению, по сравнению с группой, принимавшей плацебо, особенно на 2 и 3 месяцах испытания. Примечательно, что она не достигла статистической значимости, главным образом, из-за размера пробной выборки.

Таблица 5

Анализ топических кортикостероидов, используемых в каждой группе лечения через один месяц после начала испытания

Статистический анализ	Общее количество дней лечения
	кортикостероидами V3
U-критерий Манна-Уитни	210,500
Критерий Уилкоксона	441,500
Z-тест	-0,512
Асимптотическая значимость (двусторонняя)	0,108

Переменная группировки, используемая для получения показанных данных, представляет собой вид лечения, т.е. пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению или плацебо.

При анализе переменной дней применения антигистаминных препаратов в первый месяц значимых различий между двумя группами лечения, т.е. пробиотической композицией согласно настоящему изобретению по сравнению с плацебо, не наблюдалось (табл. 6). Эту переменную проанализировали с использованием критерия Уилкоксона с пятипроцентным (5%) уровнем статистической значимости для каждой группы лечения.

Таблица 6

Анализ антигистаминных препаратов, используемых в каждой группе лечения через один месяц после исходного уровня

Статистический анализ	Общее количество дней лечения
	антигистаминными препаратами V3
U-критерий Манна-Уитни	220,500
Критерий Уилкоксона	473,500
Z-тест	-0,578
Асимптотическая значимость (двусторонняя)	0,563

Переменная группировки, используемая для получения показанных данных, представляет собой тип лечения: пробиотическая композиция согласно настоящему изобретению по сравнению с плацебо.

В табл. 7 обобщены данные об эффективности пробиотической композиции согласно настоящему изобретению при лечении AD после одного месяца введения, особенно в отношении анализируемых переменных: индекса SCORAD, применения топических кортикостероидов и антигистаминных препаратов по сравнению с группой плацебо.

Таблица 7

Индекс SCORAD, общее количество дней применения кортикостероидов и общее количество дней применения антигистаминного препарата в группе, получавшей пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению, по сравнению с группой плацебо

	Лечение	Средний диапазон	Сумма диапазонов	Статистическая значимость
SCORAD через 1 месяц	Плацебо	26,28	525,50	0,016
	Композиция	17,16	377,50	
% улучшения SCORAD через 1 месяц	Плацебо	14,45	289,00	0,000
	Композиция	27,91	614,00	
Всего кортикостероидов V3	Плацебо	21,02	441,50	0,608
	Композиция	22,93	504,50	
Всего антигистаминных препаратов V3	Плацебо	22,50	472,50	0,563
	Композиция	21,52	473,50	

Был проведен множественный линейный регрессионный анализ для оценки независимого эффекта лечения пробиотической композицией согласно настоящему изобретению по сравнению с другими переменными, которые могут влиять на SCORAD. В этом анализе переменная SCORAD введена как зависимая переменная. В дополнение к переменной "тип лечения" включал следующие переменные: "общее количество дней лечения антигистаминными препаратами", "общее количество дней лечения кортикостероидами" и "SCORAD на исходном уровне" клинического испытания.

Через месяц после лечения единственной переменной, в значительной степени связанной с индексом SCORAD, является тип лечения. Соответственно группа, которой назначено лечение пробиотической композицией согласно настоящему изобретению, связана с абсолютным снижением SCORAD на 9,07 балла. Т.е. из общего снижения SCORAD, наблюдаемого в группе, получавшей пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению в течение первого месяца, композиция согласно настоящему изобретению отвечает за шестьдесят шесть процентов (66%) этого изменения (9,07 из 13,69 баллов SCORAD). Ни переменная общей продолжительности лечения антигистаминными препаратами, ни общее количество дней лечения кортикостероидами не связано с индексом SCORAD.

Кроме того, потребление системных кортикостероидов оценивали так же, как описано для употребления топических кортикостероидов, как предварительно определенную вторичную переменную. Результаты, полученные для системного потребления кортикостероидов, не показали существенных различий, связанных с применением этих соединений между двумя группами лечения: композицией согласно настоящему изобретению и плацебо.

Пациенты, включенные в исследование, указали, что они испытывали незначительные неблагоприятные эффекты, такие как метеоризм, в первые пять дней лечения: тридцать процентов (30%) пациентов, принимавших композицию согласно настоящему изобретению, по сравнению с четырнадцатью процентами (14%) в группе плацебо.

В заключение в этом примере результаты показывают, что введение пробиотической композиции согласно настоящему изобретению для лечения АД обеспечивает преимущества с точки зрения эффективности и переносимости по сравнению с результатами пациентов, получавших плацебо. Таким образом, проанализированные параметры показывают значительное улучшение индекса SCORAD у пациентов с АД, получавших пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению, по сравнению с группой пациентов, получавших плацебо. Это улучшение можно было наблюдать с первого месяца приема пробиотической композиции согласно настоящему изобретению, причем это улучшение сохранялось или нарастало при дальнейших анализах через 2 и 3 месяца лечения.

Кроме того, что касается общего количества дней, в течение которых пациенты в каждой группе должны были использовать топические кортикостероиды, хотя среднее значение несколько выше в группе, принимающей пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению, по сравнению с группой плацебо (3,3% против 2,6%), эта разница незначительна. И наоборот, при анализе потребления кортикостероидов на внутрисубъектном или внутригрупповом уровне (сравнивая использование кортикостероидов на исходном уровне и в конце исследования в той же группе) наблюдается тенденция снижения потребления стероидов в течение периода времени в группе, принимающей пробиотическую композицию согласно настоящему изобретению (потребление стероидов уменьшается на пятьдесят пять процентов (55%) по сравнению с группой плацебо (снижение на восемь процентов (8%) в течение периода наблюдения), достигая в этом случае статистической значимости.

Пример 3. Анализ влияния применения пробиотической композиции согласно настоящему изобре-

тению на предотвращение вспышек АД.

Из двадцати (20) пациентов с АД, включенных в исследование, провели промежуточный анализ пациентов с индексом SCORAD, равным 6. Эту группу пациентов подвергли специальному мониторингу до завершения полного трехмесячного периода лечения. Десять (10) пациентов получили плацебо (фиг. 11, черная линия) и девять (9) пациентов получили пробиотик (фиг. 11, серая линия).

На фиг. 11 показаны результаты мониторинга количества вспышек АД у всех этих пациентов с момента завершения 3-месячного лечения пробиотиком до 12 недель после завершения лечения. Таким образом, на фиг. 11 показана тенденция в отношении числа пациентов, страдающих от новой вспышки АД (фиг. 11A), общего числа пациентов с новыми вспышками АД (фиг. 11B) и процента пациентов без новых вспышек (фиг. 11C). Учитывая всех ранее пролеченных пациентов, на фиг. 11 показано, что количество вспышек, количество пациентов и процент пациентов, перенесших новые вспышки АД в 12-недельный период без лечения, выше среди тех, кто ранее получал плацебо, чем среди тех, кто ранее получал пробиотик.

Таким образом, в этой подгруппе пациенты, пролеченные пробиотической композицией согласно настоящему изобретению, имели более низкий уровень рецидивов и/или ухудшений, чем группа, получавшая плацебо (1 из 10 (10%) по сравнению с 5 из 9 (55%)) соответственно (фиг. 11B).

Различия между двумя экспериментальными группами являются статистически значимыми в течение трехмесячного периода оценки после начала мониторинга для трех проанализированных переменных.

Данные, подтверждающие эффективность пробиотика с точки зрения предотвращения возникновения новых вспышек АД, заключаются в следующем: через три месяца после прекращения лечения вышеуказанной пробиотической композицией у индивидуумов, которых лечили указанной композицией, было меньше вспышек и, следовательно, более длительный период времени без заболевания, чем у тех пациентов, которые не получали лечения.

Эти результаты демонстрируют, что использование композиции согласно настоящему изобретению является эффективным в предотвращении новых вспышек АД. Таким образом, через три месяца после прекращения лечения пробиотической композицией согласно настоящему изобретению у пациентов, которых лечили указанной композицией, было меньше вспышек заболевания и, следовательно, более длительный период без заболевания, чем у пациентов, которые получали плацебо.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Пробиотическая композиция для лечения и/или профилактики атопического дерматита, содержащая *Bifidobacterium animalis* подвид *lactis* (*B. lactis*), *Bifidobacterium longum* и *Lactobacillus casei*, причем *B. lactis* представляет собой *B. lactis* CECT 8145, *B. longum* представляет собой *B. longum* CECT 7347 и *L. casei* представляет собой *L. casei* CECT 9104.

2. Пробиотическая композиция по п.1, причем пробиотическая композиция представляет собой фармацевтическую композицию или пищевую композицию.

3. Пробиотическая композиция по п.2, причем фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.

4. Пробиотическая композиция по п.2 или 3, причем фармацевтическую композицию составили для введения в жидкой форме или в твердой форме.

5. Пробиотическая композиция по п.4, причем твердую лекарственную форму выбирают из группы, состоящей из таблеток, пастилок, конфет, жевательных таблеток, жевательной резинки, капсул, саше, порошков, гранул, покрытых оболочкой частиц или таблеток, таблеток и покрытых кишечнорастворимой оболочкой таблеток и капсул и диспергируемых полосок и/или пленок.

6. Пробиотическая композиция по п.5, причем жидкую лекарственную форму выбирают из группы, состоящей из растворов для перорального приема, суспензий, эмульсий и сиропов.

7. Пробиотическая композиция по п.2, причем пищевая композиция представляет собой пищевой продукт или пищевую добавку.

8. Пробиотическая композиция по п.7, причем пищевой продукт выбирают из группы, состоящей из фруктовых или овощных соков, мороженого, детской смеси, молока, йогурта, сыра, ферментированного молока, сухого молока, злаков, хлебобулочных изделий, продуктов на основе молока, мясных продуктов и напитков.

9. Пробиотическая композиция по любому из пп.1-8, причем композиция дополнительно содержит микроорганизм, выбранный из группы, состоящей из *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Saccharomyces* sp., *Kluyveromyces* sp. и их комбинаций.

10. Пробиотическая композиция по любому из пп.1-9, причем общая концентрация микроорганизмов штаммов *B. lactis*, *L. casei* и *B. longum* в композиции составляет между 10^3 и 10^{12} КОЕ, предпочтительно 10^9 КОЕ.

11. Пробиотическая композиция по любому из пп.1-10, в которой концентрация *B. longum* составляет по меньшей мере между 30 и 40% относительно общей концен-

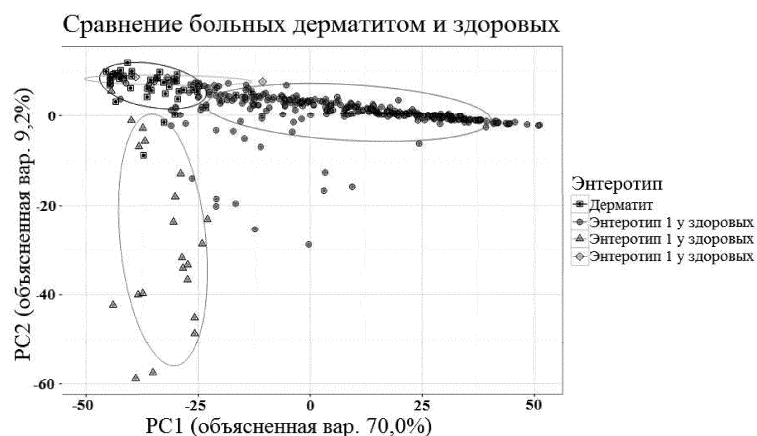
трации микроорганизмов, присутствующих в композиции; и/или

концентрация *B. lactis* составляет по меньшей мере между 30 и 40% относительно общей концентрации микроорганизмов; и/или концентрация *L. casei* составляет по меньшей мере между 25 и 35% относительно общей концентрации микроорганизмов.

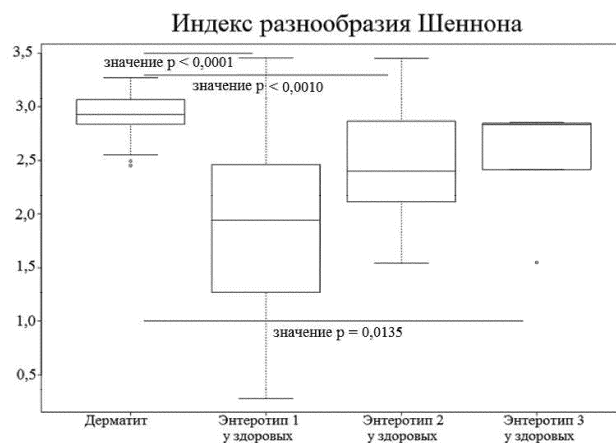
12. Пробиотическая композиция по любому из пп.1-11, в которой концентрация *B. lactis* составляет по меньшей мере между 30 и 40% относительно общей концентрации микроорганизмов.

13. Пробиотическая композиция по любому из пп.1-12, в которой концентрация *L. casei* составляет по меньшей мере между 25 и 35% относительно общей концентрации микроорганизмов.

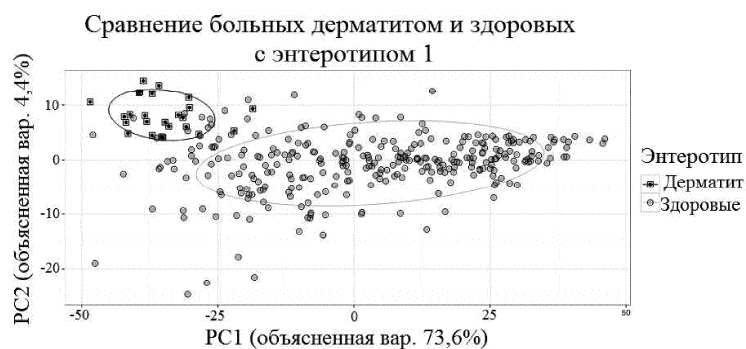
14. Применение пробиотической композиции по любому из пп.1-13 для лечения и/или профилактики атопического дерматита.



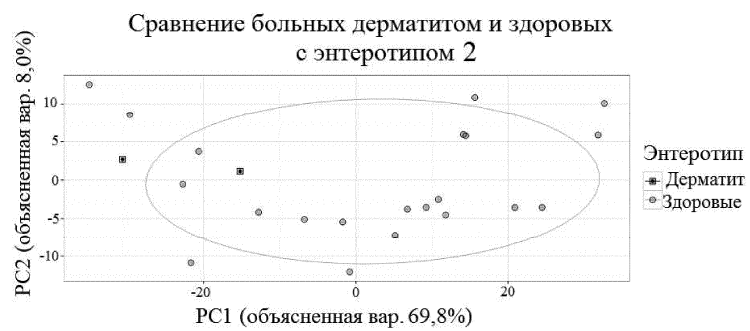
Фиг. 1



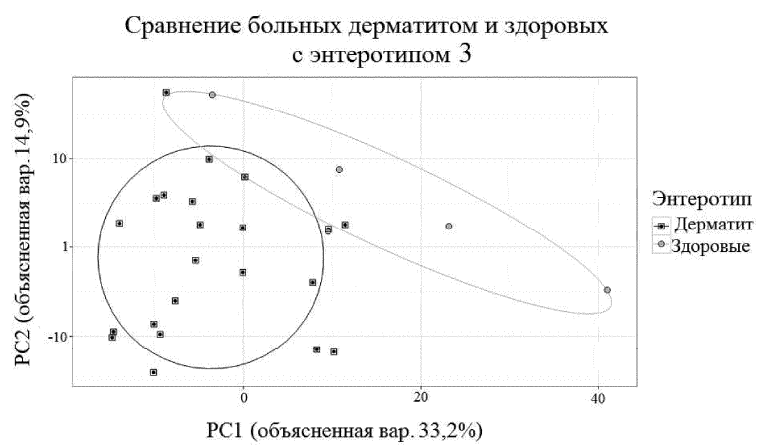
Фиг. 2



Фиг. 3

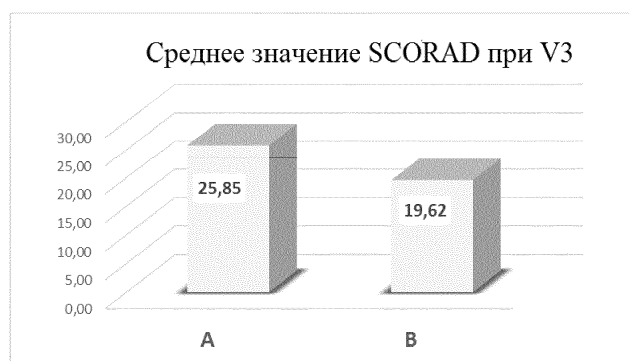


Фиг. 4

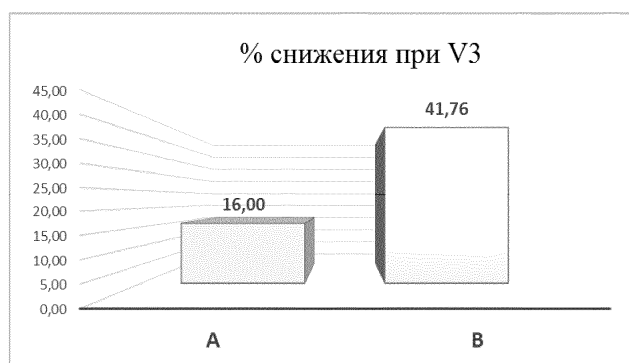


Фиг. 5

А

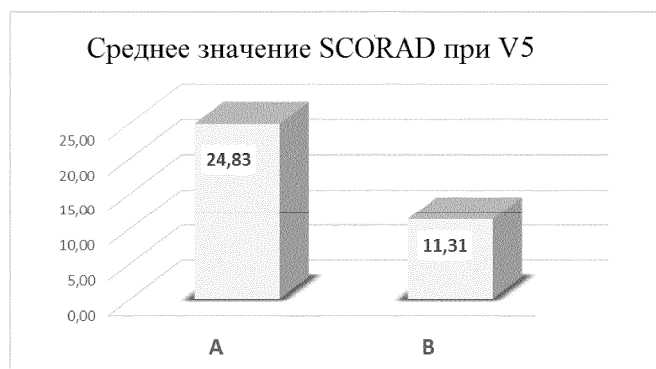


В

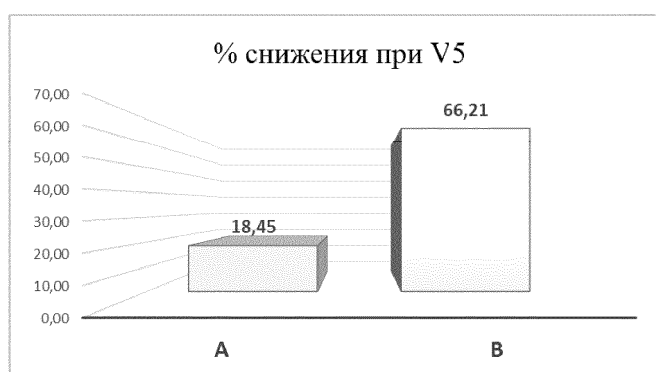


Фиг. 6

А

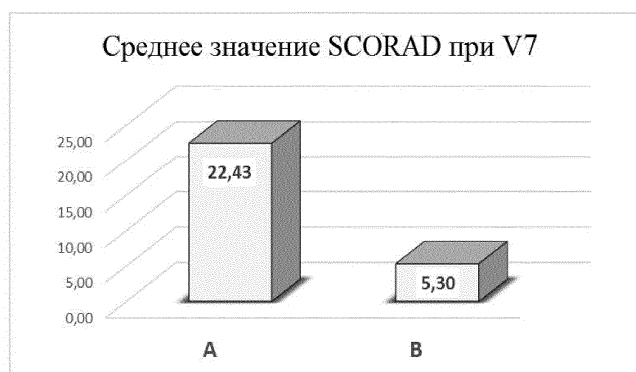


В

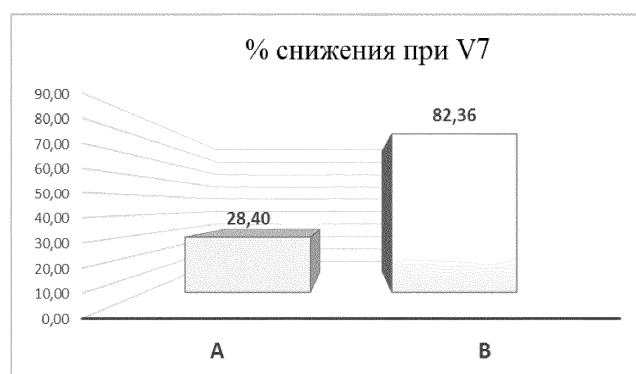


Фиг. 7

А

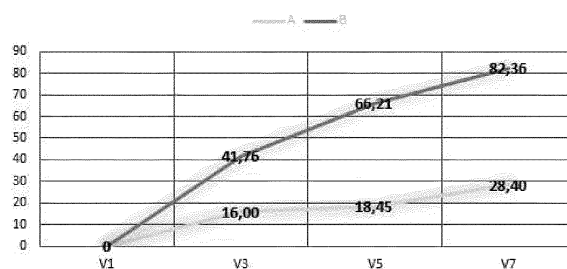


В



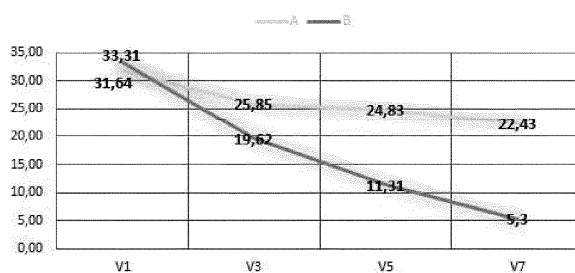
Фиг. 8

% снижения SCORAD

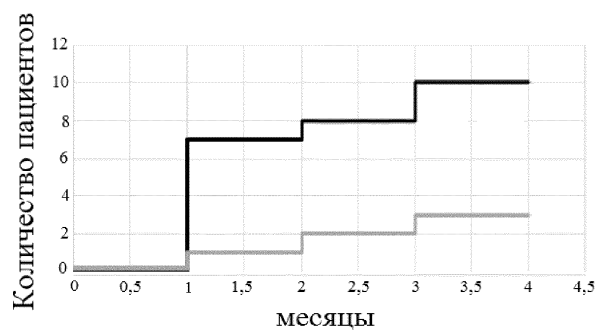


Фиг. 9

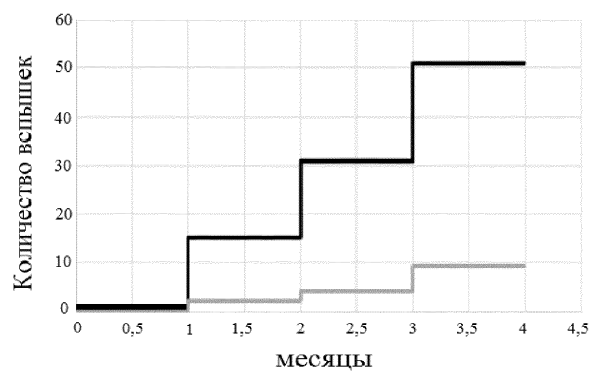
Динамика SCORAD



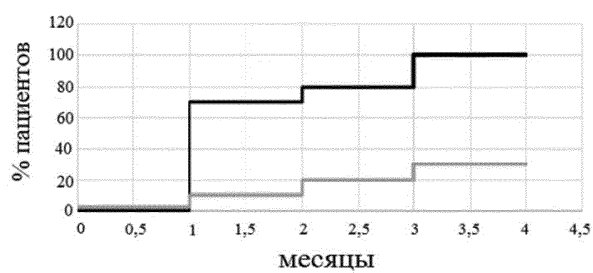
Фиг. 10



Фиг. 11А



Фиг. 11В



Фиг. 11С

