

(19)



(10)

LT 4541 B

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

- (11) Patento numeris: **4541** (51) Int. Cl.⁶: **A61K 35/74**
A61K 35/20
(21) Paraiškos numeris: **97-138** **C12N 1/20**

(22) Paraiškos padavimo data: **1997 08 08**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1999 02 25**

(45) Patento paskelbimo data: **1999 08 25**

(72) Išradėjas:

Rasa Insodienė, LT
Raimonda Oržekauskienė, LT
Vitalija Čypienė, LT
Zita Rekštienė, LT
Teresė Žiurauskienė, LT
Arūnas Dabrišius, LT

(73) Patento savininkas:

AB "Bakteriniai preparatai", Savanorių pr. 321, 3009 Kaunas, LT

(54) Pavadinimas:

Gydomojo sausosios acidofilinės lazdelės preparato gamybos būdas

(57) Referatas:

Šis išradimas yra susijęs su bakterinių preparatų gamyba ir jų panaudojimu medicinoje gydymo tikslams.

Tikslas - supaprastinti gydomojo sausosios acidofilinės lazdelės preparato gamybos būdą, pagerinti preparato kokybę, prailginti jo galiojimo laiką bei išplėsti preparato panaudojimo medicinoje galimybes.

Sausosios acidofilinės lazdelės preparato gamybos būdas numato mitybinės terpės ruošimą, užsėjimą, biomasės kultivavimą, atšaldymą, maišymą su apsaugine terpe, skystojo mišinio išpilstymą į talpas, atšaldymą ir liofilizaciją.

Nauja šiame būde yra tai, kad preparato gamybai yra naudojamos trijų *Lactobacillus acidophilus* K1, K2, K4 kamienų kultūros, pasižyminčios antagonistiniu aktyvumu patogeninėms bakterijoms, kultivuojamos lieso sterilaus pieno terpėje su (2-3) % mielių autolizato, atšaldyta biomasė maišoma su apsaugine terpe santykiu 2:1 atitinkamai, o apsauginė terpė susideda iš (7-9) % lieso pieno miltelių, (2,5-3) % natrio gliutamato, (10-12) % gliukozės, (0,4-0,7) % natrio hidrokarbonato ir distiliuoto vandens, o skystasis preparato mišinys išpilstomas į flakonus arba ampules po (3-5) cm³, o liofilizuotas preparatas išlieka aktyvus (12-36) mėnesių laikotarpyje, gali būti vartojamas disbakteriozių gydymui ir profilaktikai.

Šis išradimas yra susijęs su bakterinių preparatų gamyba ir jų panaudojimu medicinoje gydymo tikslams.

Lactobacillus acidophilus kultūros yra naudojamos, gaminant gydomuosius bakterinius preparatus, skirtus disbakteriozių gydymui ir profilaktikai.

Pasaulyje su *Lactobacillus spp.* bakterijomis yra žinomi tokie bakteriniai preparatai, kai Azicur, Biolactyl, Bacid, Antibiophilus, Omniflora. Šie preparatai yra brangūs, todėl esant sunkiai šalies ekonominei būklei, būtų sunkiai prieinami daugumai Lietuvos gyventojų. Be to, preparatai turėtų būti užregistruoti Lietuvos Respublikos Sveikatos apsaugos ministerijos Valstybinės vaistų kontrolės tarnybos vaistų registracijos biure, atlikti siūlomų preparatų klinikiniai tyrimai.

Šiame išradime aprašomas *Lactobacillus acidophilus* preparatas yra jau tiriamas Lietuvoje. Atlikti klinikiniai tyrimai patvirtino preparato efektyvumą, gydant disbakteriozes.

Artimiausias šiam išradimui yra autorinis liudijimas N1128890, 1980, TSRS, A23C9/12, C12N1/20, A23C21/02, "Способ приготовления бактериального препарата acidofilных культур", numatantis mitybinės terpės ruošimą iš pieno išrūgų, pridėdant biostimuliatorių ir druskų amonio fosfato ir amonio sulfato priedus, terpės užsėjimą *Lactobacillus acidophilus* 12b kamieno kultūra, biomasės kultivavimo eigoje terpės neutralizaciją dujiniu amonijaku bei papildymą gliukoze ir mangano sulfatu, biomasės atskyrimą, maišymų su apsaugine terpe, susidedančia iš sacharozės, želatinos, vandens, kalcio jodido ir amonio molibdato, mišinio užšaldymą ir liofilizaciją.

Šio preparato gamybos būdo trūkumai yra tame, kad bakterinio preparato gamybai naudojama eilė cheminių priedų, o biomasės kultivavimo eigoje atliekama eilė tarpinių operacijų, kaip terpės papildymas mitybinėmis medžiagomis, neutralizacija dujiniu amoniaku, biomasės atskyrimas, kas apsunkina preparato gamybos procesą ir padidina pašalinio bakterinio užterštumo riziką.

Išradimo tikslas - supaprastinti gydomojo sausosios acidofilinės lazdelės preparato gamybos būdą, sumažinant vykdomų technologinių operacijų kiekį bei parenkant tokią kultivavimo bei apsauginių terpių sudėtį, kurioje būtų kuo mažiau cheminių priedų, pagerinti preparato kokybę, prailginti jo galiojimo laiką, išplėsti

preparato panaudojimo galimybes įvairios kilmės disbakteriozių gydymui. Šis tikslas pasiekiamas taip.

Anksčiau minėtas žinomas preparato gamybos būdas numato mitybinės terpės ruošimą, kultūros užsėjimą, biomasės kultivavimą, atšaldymą, maišymą su apsaugine terpe, skysto mišinio išpilstymą į talpas, užšaldymą ir liofilizaciją, o pagal šį išradimą mitybinę terpę gamina steriliame liesame piene su mielių autolizatu, kurio prideda (2-3)% nuo bendro sterilaus lieso pieno kiekio, o gaminant apsauginę terpę į didtiliuotą vandenį prideda (7-9)% lieso pieno miltelių, (2.5-3)% natrio gliutamato, (10-12)% gliukozės, (0.4-0.7)% natrio hidrokarbonato, o atšaldytą biomasę maišo su apsaugine terpe santykiu 2:1 atitinkamai, o kultivavimo terpės užsėjimui naudoja *Lactobacillus acidophilus* K1, K2, K4 kamienų kultūras, kurios pasižymi antagonistiniu aktyvumu patogeninėms bakterijoms, o skystas preparato mišinys išpilstomas į mažos talpos pakuotes, pavyzdžiui, į flakonus arba ampules, po (3-5)cm³. Kiekvienas šio išradimo skiriamasis požymis taip pat siejasi su iškelto tikslu.

Pagal šį išradimą mitybinė terpė ruošama iš sterilaus lieso pieno, pridedant į jį (2-3)% mielių autolizato. Palyginus su prototipu mūsų terpės sudėtyje yra mažiau sudėtinių komponentų, o terpės sudėtis užtikrina biomasės augimą ir kultivavimo eigoje nereikia atlikti papildomų technologinių operacijų, tokių kaip kultivavimo terpės papildymas maistinėmis medžiagomis, neutralizacija ir biomasės atskyrimas. Visa tai padeda supaprastinti gamybos būdą.

(2-3)% mielių autolizato priedas į sterilų liesą pieną pakankamai praturtina kultivavimo terpę B grupės vitaminais ir amino rūgštimis, kurios suaktyvina bakterijų ląstelių vystymąsi ir biomasės didėjimą bei aktyvumą.

Mažiau negu 2% mielių autolizato priedas, pavyzdžiui 1% bus nepakankamas, kad bakterijų ląstelės intensyviai vystytųsi ir išliktų gyvybingos ilgą laiką (žr. 1 lentelė).

Pridėti mielių autolizato daugiau kaip 3%, pavyzdžiui 4%, yra netikslinga, kadangi optimalus bakterijų ląstelių vystymasis pasiekiamas, pridėjus (2-3)% mielių autolizato, o didesnis jo kiekis nekeičia ląstelių aktyvumo, be to, toks kiekis padidina preparato savikainą.

Pagal šį išradimą apsauginės terpės panaudojimas, į kurią įeina (7-9)% lieso pieno miltelių, (2.5-3)% natrio gliutamato, (10-12)% gliukozės, (0.4-0.7)% natrio hidrokarbonato, užtikrina optimalų sausų medžiagų kiekį preparate, padeda gauti gerą konsistenciją, palengvina liofilizacijos procesą, ir rezultate gaunamas

geros kokybės preparatas, užtikrinantis ilgalaikį gyvų *Lactobacillus acidophilus* ląstelių gyvybingumo ir aktyvumo išsaugojimą (žr. 2, 3 lenteles).

Mažesnis kaip 7% lieso pieno miltelių kiekis, pavyzdžiui 5%, neužtikrins pakankamo sausų medžiagų kiekio preparate, o tai apsunkina liofilizacijos procesą ir pablogina preparato konsistenciją ir kokybę.

Didesnis kaip 9% lieso pieno miltelių kiekis, pavyzdžiui 11%, yra netinkamas preparato gamybai, nes terminio apdirbimo metu autoklave apsauginė terpė koaguliuoja ir yra netinkama naudoti.

Mažesnis kaip 2.5% natrio gliutamato kiekis, pavyzdžiui 1%, neužtikrina bakterijų ląstelių ilgalaikio gyvybingumo, o didesnę kaip 3%, pavyzdžiui 4%, nėra tikslinga naudoti, nes optimalus efektas, padidinantis ląstelių atsparumą liofilizacijai, sužeistų ląstelių atsistatymą ir gyvybingumą, gautas, pridėjant 3% natrio gliutamato, ir didesnis jo kiekis padidintų preparato savikainą.

Mažesnis kaip 10% gliukozės kiekis, pavyzdžiui 7%, neužtikrina ilgalaikio ląstelių išgyvenimo anabiozės būsenoje, sumažina sausų medžiagų kiekį preparate, pablogina preparato išorinį vaizdą bei konsistenciją. Didesnę kaip 12% gliukozės kiekį, pavyzdžiui 15%, naudoti netikslinga, kadangi optimalūs preparato rodikliai jau pasiekti, ir didesnis gliukozės kiekis tik pabrangintų preparato gamybą.

Naudojant mažesnę kaip 0.4% natrio hidrokarbonato kiekį, pavyzdžiui 0.25%, nepasiekama terpės neutralizacija, negaunamas reikalingas pH rodiklis, ir rūgščioje terpėje bakterijų ląstelės greičiau išmiršta. Naudoti didesnę kaip 0.7% natrio hidrokarbonato kiekį, pavyzdžiui 0.9%, būtų netinkama, kadangi būtų gauta jau per didelė pH reikšmė, o geriausias pH *Lactobacillus acidophilus* ląstelių gyvybingumui išsaugoti yra neutralus arba švelniai rūgštinis pH (žr. 4 lentelė).

Palyginus su prototipu mūsų apsauginės terpės gamyba yra paprastesnė, nes želatinos naudojimas prototipo apsauginėje terpėje apsunkina terpės ruošimą ir liofilizacijos procesą.

Pagal šį išradimą bakterijų biomasė yra maišoma su apsaugine terpe santykiu 2:1 atitinkamai. Aukščiau išdėstyta apsauginės terpės komponentų kiekybinė ir kokybinė sudėtis kartu su naudojamu praskiedimo santykiu 2:1 užtikrina optimalų sausų medžiagų kiekį preparate, padeda gauti gerą homogenišką preparato konsistenciją, užtikrina ilgalaikį preparato aktyvumą. Maišant biomasę su apsaugine terpe santykiu 1:1, gaunamas per didelis praskiedimas, sumažėja gyvų bakterijų ląstelių kiekis 1g, gali būti gaunama nehomogeniška sausa biomasė.

Maišant biomasę su apsaugine terpe santykiu 3:1 gaunamas netinkamas sausų medžiagų kiekis preparate, neužtikrinamas ilgalaikis ląstelių gyvybingumas. Sumaišyta su apsaugine terpe 3:1 biomasė išlieka per klampi, o tai apsunkina skysto preparato mišinio išpilstymą.

Pagal šį išradimą gamybai naudojamos *Lactobacillus acidophilus* K1, K2, K4 kamienų kultūros, kurios, palyginus su prototipu, pasižymi antagonistiniu aktyvumu patogeninėms bakterijoms *Shigella sonnei*, *S. flexneri* 2a, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* 018, *Staphylococcus aureus* bei sąlyginai patogeninėms *Proteus mirabilis* bakterijoms, kas kartu su kitais skiriamaisiais nuo prototipo požymiais padeda išplėsti preparato panaudojimo galimybes įvairios kilmės disbakteriozių gydymui.

Pagal šį išradimą palyginus su prototipu skystasis preparato mišinys pilstomas į mažos talpos pakuotes, pavyzdžiui, į flakonus arba ampules po (3-5) cm³. Palyginus su prototipu skystojo preparato mišinio išpilstymas į flakonus leidžia išvengti pašalinio bakterinio užterštumo rizikos prieš ir po liofilizacijos, užtikrinti preparato kokybę, prailginti preparato galiojimo laiką (žr. 5 lentelė).

Išpilstyti preparatą mažiau kaip po 3 cm³, pavyzdžiui po 2 cm³, nėra naudinga, kadangi gaunamas per mažas preparato kiekis, reikalingas vienkartiniam vartojimui.

Išpilstyti preparatą daugiau kaip po 5 cm³, pavyzdžiui po 7 cm³, nėra tikslinga, kadangi reikalingos didesnės talpos, yra apsunkinamas ir prailginamas preparato liofilizacijos procesas.

Pagal šį išradimą visi skiriamieji požymiai kartu užtikrina *Lactobacillus acidophilus* ląstelių aktyvumą, minimalų ląstelių žuvimą, sumažina deformuotų ir sužeistų ląstelių dažnumą, stimuliuoja subletalai pažeistų ląstelių gyvybingumo išlikimą ir ląstelių atsistatymą, užtikrina liofilizuotos biomasės grynumą ir homogeniškumą, ko pasėkoje pasiekiamas ilgalaikis bakterijų ląstelių gyvybingumas ir preparato aktyvumas.

Pakartotinių ilgalaikių laboratorinių tyrimų rezultatai patvirtino, kad sausosios acidofilinės lazdelės preparatas išlieka gyvybingas ir aktyvus 12 - 36 mėnesių laikotarpyje, o gyvų ir aktyvių ląstelių kiekis 100g preparato siekia 10⁹ - 10¹².

Klinikiniai preparato tyrimai, atlikti Vilniaus Universiteto Santariškių ligoninės Gastroenterologijos ir dietologijos klinikoje, o taip pat KMA Infekcinių ligų klinikoje, patvirtino, kad pagal šį išradimą pagamintas gydymasis sausosios acidofilinės

lazdelės preparatas gali būti naudojamas žarnyno funkcinių ir infekcinių susirgimų gydymui, virškinamojo trakto natūralios mikrofloros biocenozės atstatymui ir reguliavimui.

Klinikinių preparato tyrimų rezultatai leido padaryti sekančias išvadas: sausasis acidofilinės lazdelės preparatas gerai toleruojamas, neturi pašalinių reiškinių; kliniškai nepastebėta perdozavimo reiškinių, duodant didesnes dozes; sergantiems disbioze su pieno rūgšties bakterijų nepakankamumu bakterijų kiekio atsistatymas vyksta labai greitai, paraleliai su klinikinių simptomų pasikeitimu; invazinių disbiozių atvejais gaunamas ligonių būklės pagerėjimas, nusiskundimų mažėjimas, tiesa, ne visada ilgalaikis; gydant pieno rūgšties bakterijų preparatais, pastebėta ir bifidobakterijų kiekio padidėjimas; skiriant preparatą su atitinkamais antibiotikais, sumažėjo jatrogeninių disbiozių dažnumas ir gilumas; kliniškai stebimas apetito pagerėjimas, pilvo pūtimo sumažėjimas, žarnyno tranzito pagerėjimas.

Remiantis klinikiniu-bakteriologiniu ištyrimu medikai rekomendavo sausąjį acidofilinės lazdelės preparatą skirti disbiozių gydymui, antibiotikoterapijos koregavimui, funkcinių žarnyno susirgimų gydymui, kaip profilaktinį-gydomąjį preparatą.

Taigi kiekvienas skiriamasis šio išradimo požymis yra būtinas, esminis, kartu visumoje su bendrais esminiais prototipo požymiais yra pakankamas tikslui pasiekti.

Būdas naudojamas taip:

1 pavyzdys

Į 5 l sterilaus pieno terpės, kurioje yra 100 cm³ mielių autolizato (2%), užsėjama *Lactobacillus acidophilus* K1, K2, K4 kultūros, kurių įpilama po 25 cm³ kiekvienos. Gerai išmaišoma ir kultivuojama 37°C temperatūroje 18h. Biomasė atšaldoma iki 8°C temperatūros ir sumaišoma su 2.55 l sterilios apsauginės terpės (2:1), kuri pagaminta į 2.5 l distiliuoto vandens pridėjus 175g lieso pieno miltelių (7%), 65g natrio gliutamato (2.6%), 250g gliukozės (10%), 10g natrio hidrokarbonato (0.4%). Paruošto skystojo preparato mišinio (biomasė sumaišoma

su apsaugine terpe santykiu 2:1 atitinkamai) pH 4.2. Išpilstoma po 3 cm³ į flakonus, užšaldoma -45°C temperatūroje, kurioje išlaikoma mažiausiai 24h, po to liofilizuojama iki preparato temperatūra pasieks +26°C, o liekamoji drėgmė bus 3.5%. Aseptinėmis sąlygomis flakonai su sausąja acidofiline lazdele hermetizuojami.

Flakone liofilizuotas preparatas yra purios, homogeniškos, amorfinės arba kristalinės, baltos arba baltai kreminės spalvos biomasė, kurioje yra 3×10^{12} - 3×10^9 gyvų ir aktyvių *Lactobacillus acidophilus* ląstelių, kurių kiekis po 12 mėnesių saugojimo išlieka ne mažesnis kaip 3×10^7 /flakone.

2 pavyzdys

Į 5 l sterilaus lieso pieno, kuriame yra 150 cm³ mielių autolizato (3%), užsėjama *Lactobacillus acidophilus* K1, K2, K4 kultūros, kurių įpilama po 25 cm³ kiekvienos. Gerai išmaišoma ir kultivuojama 37°C temperatūroje 18h. Biomasė atšaldoma iki 8°C temperatūros ir sumaišoma su 2.55 l sterilios apsauginės terpės (2:1), kuri pagaminta į 2.5 l distiliuoto vandens pridėjus 225g lieso pieno miltelių (9%), 75g natrio gliutamato (3%), 300g gliukozės (12%), 17.5g natrio hidrokarbonato (0.7%). Paruošto skystojo preparato mišinio pH 5. Išpilstoma po 5 cm³ į flakonus, užšaldoma -45°C temperatūroje, kurioje išlaikoma mažiausiai 24h, ir liofilizuojama, iki preparato temperatūra pasieks +26°C, o liekamoji drėgmė bus 3.5%. Aseptinėmis sąlygomis flakonai hermetizuojami.

Flakone liofilizuotas preparatas yra purios, homogeniškos, amorfinės arba kristalinės, baltos ar baltai kreminės spalvos biomasė, kurioje yra 5×10^{12} - 5×10^9 gyvų ir aktyvių *Lactobacillus acidophilus* ląstelių, kurių kiekis po 12 mėnesių saugojimo išlieka ne mažesnis kaip 5×10^7 /flakone.

**Mielių autolizato priedo į kultivavimo terpę įtaka *Lactobacillus acidophilus*
vystymuisi**

Eil. Nr.	Kultivavimo terpės sudėtis	Bendras bakterijų kiekis /lg biomasės	Biomasės rūgštingumas po 16 h, °T
1.	Sterilus liesas pienas (SP)	$9,4 \cdot 10^7$	148
2.	SP+1% mielių autolizato (ma)	$2,6 \cdot 10^8$	152
3.	SP+2% ma	$4,2 \cdot 10^9$	178
4.	SP+3% ma	$4,5 \cdot 10^9$	166
5.	SP+4% ma	$4,8 \cdot 10^9$	172
6.	SP+2% ma+1% sacharozės	$3,1 \cdot 10^9$	176
7.	SP+2%ma+1% sacharozės+ +0,01% ZnSO ₄	$7,9 \cdot 10^8$	156

Pastaba. Mikroskopinis vaizdas. *L.acidophilus*, kultivuotų terpėje su (2 - 4) % mielių autolizato, ląstelės palyginus su kontrole (SP) ryškesnės, aktyviau dažosi ir dažniau sukibę į grandinėles po 2 - 3 - 4 - 5 - 6 ląsteles.

2 lentelė

Apsauginės terpės įtaka sausosios acidofilinės lazdelės biomasės rodikliams
(kultivavimo terpė - sterilus liesas pienas + 2% mielių autolizato; sumaišymo
santykis 2:1)

Eil. Nr.	Apsauginės terpės sudėtis	Išorinis preparato vaizdas	Pastabos
1.	K (be apsauginės terpės)	Homogeniška arba lakštelinė struktūra, biomasė kieta, paviršius suaizėjęs, blogai atšoka nuo flakono sienelės	Apsunkintas preparato pilstymas dėl didelio klampumo; trumpalaikis preparato aktyvumas
2.	H ₂ O+2,5% gliukozės +1,5%Na acetato+1% želatinos+0,25% natrio gliutamato	Homogeniška, puri, kiek pakilusi, minkšta biomasė, smulkinasi lengvai	Biomassė sunkiai tirpsta; nepakankamas aktyvumas saugojimo laikotarpyje
3.	H ₂ O+7% lieso pieno miltelių+10% gliukozės +3% natrio gliutamato +0,4% NaHCO ₃	Puri, homogeniška, amorfinė arba kristalinė, baltos, baltai kreminės spalvos liofilizuota biomasė	Visi rodikliai charakterizuoja aukštos kokybės sausąjį acidofilinės lazdelės preparatą
4.	H ₂ O+9% lieso pieno miltelių+12% gliukozės +2,5% natrio gliutamato +0,7% NaHCO ₃	Puri, homogeniška, amorfinė arba kristalinė, baltos, baltai kreminės spalvos liofilizuota biomasė	Visi rodikliai charakterizuoja aukštos kokybės sausąjį acidofilinės lazdelės preparatą
5.	H ₂ O+11% lieso pieno miltelių+12% gliukozės +4% natrio gliutamato +0,6% NaHCO ₃	Netinka preparato gamybai	Sterilinimo autoklave metu terpė koaguliavo, netinkama preparato gamybai

Apsauginės terpės įtaka sausosios acidofilinės lazdelės preparato gyvybingumui
(kultivavimo terpė - SP + 2% ma)

Eil. Nr.	Apsauginės terpės sudėtis	Gyvų ir aktyvių acidofilinės lazdelės ląstelių kiekis 1g sausojo preparato saugojimo laikotarpyje, mėn.					
		K, po liofilizacijos	1	3	6	9	12
1.	K (be apsauginės terpės)	$4 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^4$	$4,2 \cdot 10^2$	-	-
2.	H ₂ O + 7% lieso pieno miltelių + 3% Na gliutamato + 10% gliukozės + 0,4% NaHCO ₃	$1 \cdot 10^{12}$	$1 \cdot 10^{11}$	$1,1 \cdot 10^{10}$	$7,8 \cdot 10^9$	$4,6 \cdot 10^8$	$9,6 \cdot 10^7$
3.	H ₂ O + 9% lieso pieno miltelių + 2,5% Na gliutamato + 12% gliukozės + 0,7% NaHCO ₃	$2 \cdot 10^{12}$	$1 \cdot 10^{12}$	$4,6 \cdot 10^{11}$	$4,2 \cdot 10^{10}$	$1 \cdot 10^{10}$	$3,7 \cdot 10^9$
4.	H ₂ O + 5% lieso pieno miltelių + 1,5% Na gliutamato + 7% gliukozės + 0,5% NaHCO ₃	$2 \cdot 10^{10}$	$4,8 \cdot 10^8$	$2,6 \cdot 10^7$	$3,9 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^5$	-
5.	H ₂ O + 2,5% gliukozės + 1,5% Na acetato + 1% želatinos + 0,25% Na gliutamato	$4,3 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^6$	$4,8 \cdot 10^5$	-	-

NaHCO₃ priedo įtaka apsauginės terpės rūgštingumo (pH) kitimui

Apsauginės terpės sudėtis	Įdedamo NaHCO ₃ koncentracija, %	Apsauginės terpės pH (±0,05)
H ₂ O+7% lieso pieno	0	6,75
miltelių+10%	0,25	6,9
gliukozės+3% Na	0,4	7,1
gliutamato +X%	0,7	7,2
NaHCO ₃	0,9	7,3
	1,0	7,55
	1,1	7,8
	1,2	7,9
	1,3	8,1

Pastaba. *L.acidophilus* biomasę sumaišius su apsaugine terpe, kurioje yra (0,4 - 0,7) % NaHCO₃, santykiu 2:1 atitinkamai, pasiekiamas sausojo preparato rūgštingumas pH 4 - 5,5, kuris yra tinkamas *L.acidophilus* ląstelių gyvybingumo išlikimui.

5 lentelė

**Biomasės sumaišymo su apsaugine terpe kiekybinio santykio įtaka sausosios
acidofilinės lazdelės preparato rodikliams**

Biomasės ir apsauginės terpės sumaišymo santykis	Liofilizuoto preparato charakteristika	Gyvų <i>L.acidophilus</i> ląstelių skaičius 1g preparato saugojimo laikotarpyje, mėn.			
		1	3	6	9
1:1	Biomasė korėta, nehomogeniška, dažna lakštelinė struktūra, vietomis biomasė trupa, negraži	10^9	10^9	10^8	10^7
2:1	Puri, homogeniška, amorfinė arba kristalinė, balta, baltai kreminės spalvos biomasė	10^{12}	10^{11}	10^{10}	10^9
3:1	Kieta, netolygi, vietomis suaižėjusi ar susisluoks- niavusi biomasė, blogai atšoka nuo flakono sienelės	10^{11}	10^9	10^8	10^7

Išradimo apibrėžtis

Gydomojo sausosios acidofilinės lazdelės preparato gamybos būdas, numatantis mitybinės terpės ruošimą, kultūros užsėjimą, biomasės kultivavimą, atšaldymą, maišymą su apsaugine terpe, skystojo mišinio išpilstymą į talpas, užšaldymą ir liofilizaciją,

besiskiriantis tuo, kad

mitybinę terpę gamina steriliame liesame piene su mielių autolizatu, kurio prideda 2 - 3 % nuo bendro sterilaus lieso pieno kiekio, o gaminant apsauginę terpę, į distiliuotą vandenį prideda 7 - 9 % lieso pieno miltelių, 2,5 - 3 % natrio gliutamato, 10 - 12 % gliukozės, 0,4 - 0,7 % natrio hidrokarbonato, be to atšaldytą biomasę maišo su apsaugine terpe santykiu 2:1 atitinkamai, o kultivavimo terpės užsėjimui naudoja *Lactobacillus acidophilus* K1, K2, K4 kamienų kultūras, kurios pasižymi antagonistiniu aktyvumu patogeninėms bakterijoms, o skysto preparato mišinį išpilsto į mažos talpos pakuotes, (pavyzdžiui, į flakonus arba ampules) po 3 - 5 cm³.