

Винахід відноситься до галузі медицини, а саме до фармакології, зокрема до препаратів для лікування бактеріального вагінозу, і може бути використаний в фармацевтичній промисловості й акушерсько-гінекологічній практиці.

В цей час хвороби, викликані генітальними інфекціями, відносяться до числа найбільш частих гінекологічних захворювань. В останні роки намітилась тенденція росту захворювань, що супроводжуються порушенням нормальної мікрофлори піхви, зокрема, бактеріального вагінозу.

В медичній практиці для лікування таких захворювань широко застосовуються антимікробні препарати, наприклад, антибіотики. Однак вони звичайно токсичні, не завжди ефективні, крім того, викликають появу мікроорганізмів, стійких до дії використовуваних антибактеріальних засобів. Як наслідок лікування зазначеними препаратами потрібне додаткове відновлення мікробіоценозу слизуватої піхви.

В зв'язку з вищевикладеним дуже важлива роль приділяється пошуку нових безпечних лікарських препаратів для лікування захворювань піхви, які супроводжуються порушенням мікробіоценозу, і що не мають протипоказань.

Найбільш близьким до рішення, що заявляється, є препарат для лікування бактеріального вагінозу "Лактобактерин в суппозиторіях" (Інструкція по применению лактобактерина в суппозиторіях. Нижегородское государственное предприятие по производству бактериальных препаратов. Утверждено Министерством здравоохранения СРСР, 29 ноября 1992г.).

"Лактобактерин в суппозиторіях" являє собою мікробну масу живих лактобацил, ліофільно висушену в середовищі культивування. Крім того, він містить цукрово-желатиномолочний інгредієнт, що є захисним середовищем, необхідним для збереження життєздатності бактерій, і прийнятну жирову основу.

Живі мікробні клітки (МК) лактобацил мають антагоністичну активність по відношенню до тест-штамів патогенних і умовно-патогенних мікробів, включаючи шигели, ентеропатогенну кишкову паличку, стафілокок, протей, що і визначає дію відомого препарату при порушеннях нормального мікробіоценозу. Препарат-прототип має термін придатності 1 рік за умови його збереження при температурі $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Однак недоліком "Лактобактерина в суппозиторіях" є недостатньо високі фармакологічні властивості, оскільки вони не забезпечують належний антагоністичний, протинфекційний ефекти і необхідний рівень приживляємості мікроорганізмів на слизуватій піхви. І, крім того, препарат не володіє необхідною біодоступністю. Зазначені недоліки є причиною відносно низької лікувальної ефективності препарату.

Ще одним істотним недоліком відомого препарату є відсутність збереженості МК при звичайних умовах поза холодним ланцюгом.

Задачею цього винаходу є створення препарату для лікування бактеріального вагінозу шляхом сполучення інгредієнтів, що входять до його складу, в результаті чого досягається висока життєздатність живих МК і як наслідок - підвищення лікувальної ефективності і збільшення терміну збереження препарату.

Поставлена задача вирішується тим, що препарат для лікування бактеріального вагінозу, який містить як активну складову мікробну масу живих бактерій, захисне середовище, жирову основу, згідно з винаходом як мікробну масу містить лактобацили та один або кілька родів еубіотичних бактерій, вибраних з групи: біфідобактерії, стрептококи і лактококи в кількості 10^3 - 10^9 МК на одну дозу, додатково містить прийнятний сорбент при співвідношенні його до мікробної маси бактерій (9-1):(1-9), біологічно активну добавку в кількості 0,05-3,0 мас. % відносно маси одержаного препарату, а як жирову основу - будь-яку прийнятну основу, що містить не більш 5 мас. % води і що має рН 4,5-7,0.

Запропоновані авторами мікроорганізми, що входять до складу препарату, що заявляється, є представниками нормальної мікрофлори слизуватої піхви й охоплюють спектр бактерій, при порушенні кількості яких виникають певні патології, зокрема, бактеріальний вагіноз.

Обов'язковою умовою є наявність в препараті лактобацил, оскільки вони в значній своїй більшості визначають мікрофлору слизуватої піхви. Що стосується інших мікроорганізмів, то їх наявність в препараті призначена для посилення біологічної активності лактобацил.

Необхідна біологічна активність і ефективність лікування визначається життєздатністю МК, їх адгезивною здатністю і здатністю до колонізації. Авторами цього винаходу запропонований вміст 10^5 - 10^9 МК в одній дозі, що, з одного боку, зв'язано з ефективністю препарату, а з іншого боку - з економічною доцільністю.

На моделі білих пацюків, яким через 24 години після прийому препаратів робили зіскріб зі слизуватої піхви, при введенні 0,1 мл суспензії препарату, що складається з іммобілізованих лактобацил і неіммобілізованих лактобацил в тих же концентраціях (від 10^2 мк/см³ до 10^{10} мк/см³) було показано, що адгезивна активність лактобацил у складі препарату досягає максимального рівня $9,1 \cdot 10^7$ мк/мм² при введенні препарату, що містить 10^9 МК. Подальше ж збільшення концентрації МК не приводить до підвищення рівня адгезії.

Дані таблиці 1 підтверджують, що найбільш клінічно ефективним є препарат, що містить від 10^5 до 10^9 МК в одній дозі.

Для порівняння показано, що неіммобілізовані бактерії уступають у рівні адгезії, не перевищуючи $3,5 \cdot 10^4$ мк/мм² поверхні слизуватої.

Таблиця 1

Адгезивна активність лактобацил в препараті, що заявляється,
і лактобацил в суспензії

Лактобацили	Вихідні концентрації МК, що вводяться, в 1 см ³ суспензії						
	10^2	10^4	10^5	10^6	10^8	10^9	10^{10}
Іммобілізовані на сорбенті в складі препарату, що заявляється	Адгезивна активність до епітелію						
	$1,2 \cdot 10^7$	$2,6 \cdot 10^7$	$8,0 \cdot 10^7$	$3,8 \cdot 10^7$	$6,6 \cdot 10^7$	$9,1 \cdot 10^7$	$9,2 \cdot 10^7$
Неіммобілізовані в складі суспензії	немає	$1,7 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^4$	$4,1 \cdot 10^4$

Захисне середовище відповідно до даного винаходу повинно бути таким, яке здатне зберегти на необхідному рівні життєздатність сорбованих бактерій після ліофільного сушіння.

Кількісний вміст захисного середовища, наприклад, цукрово-желатиномолочного середовища звичайно визначається умовами збереження мікроорганізмів у препараті і складає 0,01-0,02% від мікробної маси.

До прийнятних сорбентів, використовуваних у препараті, що заявляється, належать будь-які сорбенти, дозволені Міністерством охорони здоров'я, наприклад, похідні целюлози, глиноземи, зокрема, смектит натрію та ін.

Для досягнення лікувальної ефективності препарату, що заявляється, на необхідному рівні, необхідне створення мікроколоній, що складаються з частки сорбенту, на якій сорбовано 10-40МК. Ця умова, як визначено в цьому винаході, задовольняється при масовому співвідношенні сорбенту до мікробної маси (9-1):(1-9). При цих умовах утворення мікроколоній бактерій буде максимальним.

Розмір часток сорбенту може бути будь-яким придатним для препарату такого призначення, однак найбільш прийнятним є розмір не більш 100мкм, в противному випадку можливо механічне роздратування слизуватої.

Що стосується біологічно активної добавки, то вона може мати різні функції.

Кількісний вміст добавки від 0,05 до 3,0мас.% від маси препарату, що одержують, обумовлено тим, що при вмісті меншому, ніж 0,05мас.% різко падає її ефективність, тобто вплив на життєздатність, колонізацію й адгезію на слизуватій МК.

При більшому, ніж 3,0мас.% вмісті біологічно активної добавки виникає небезпека лізису бактерій, що вводяться, і, крім того, можливі її побічні дії, наприклад, роздратування слизуватої від її надлишку, зокрема, при використанні ефірних олій рослин.

Вибір інгредієнтів біологічно активної добавки дуже широкий і обумовлений особливостями конкретного застосування препарату, що заявляється, наприклад, можуть бути використані фунгіцидні інгредієнти або, в разі потреби, - інгредієнти, що мають антимікробну дію, та ін. Введення в препарат, наприклад, фітоінгредієнтів прискорює процес колонізації слизуватої і приводить до нормалізації мікробіоценозу по цьому показнику вже через 48 годин.

Авторами запропоновано як жирову основу використовувати будь-яку основу, придатну для одержання крему або супозиторію. Однак до жирової основи пред'являються деякі вимоги - вона не повинна містити більш 5% води і повинна забезпечувати для препарату рН4,5-7,0, в противному випадку життєздатність бактерій різко падає, що позначається на ефективності препарату.

Крім того, сукупність всіх інгредієнтів препарату, що заявляється, спрямована на збільшення термінів його збереження і на спрощення умов збереження. Результати відповідних досліджень приведені в таблиці 2.

Для дослідження взяті препарати, що заявляються, які відрізняються використанням сорбентом і величиною рН жирової основи. Дослідження проводилися через рік їхнього збереження при температурі 22°C.

Таблиця 2

Залежність життєздатності бактерій від величини рН жирової основи

Препарат, що заявляється, який відрізняється сорбентом	Вихідна кількість МК в 1г препарату	Життєздатність бактерій, кількість МК в 1г препарату				
		рН жирової основи				
		3,0	4,5	6,5	7,0	7,5
Похідні целюлози	$1,0 \cdot 10^9$	$1,0 \cdot 10^7$	$8,0 \cdot 10^7$	$4,0 \cdot 10^8$	$4,0 \cdot 10^8$	$5,0 \cdot 10^7$
Поліметилсилоксан	$1,0 \cdot 10^9$	$1,0 \cdot 10^6$	$4,0 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$	$7,0 \cdot 10^7$
Смектит натрію	$1,0 \cdot 10^9$	$2,0 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^8$	$5,0 \cdot 10^8$	$1,0 \cdot 10^7$

Дані таблиці 2 свідчать про те, що життєздатність бактерій найбільш висока при рН4,5-7,0, при значеннях рН нижче 4,5 вона недостатня для досягнення необхідних результатів, а при значеннях рН вище 7,0 життєздатність бактерій помітно падає.

Залежність життєздатності бактерій і рН жирової основи, що одержана після року збереження при температурі 22°C, свідчить про збільшення термінів збереження з одночасним спрощенням умов збереження.

Для доказу клінічної ефективності препарату, що заявляється, були проведені дослідження, результати яких наведені в таблиці 3.

Як досліджувані препарати був використаний препарат (1), який відповідає препарату, що заявляється. Як бактерії для наочності були взяті лактобацили. Додавання відповідно до рішення, що заявляється, до них біфідобактерій та/або стрептококів, та/або лактококів пропорційно підсилює одержуваний результат.

Крім того, досліджували препарат (2) без фітодобавки і, нарешті, препарат (3), що відповідає прототипу.

Зазначені вище препарати вводили в піхву жінкам - добровольцям, що страждають бактеріальним вагінозом, вираженим зниженням лактофлори.

Таблиця 3

Порівняльна характеристика лікувальної дії препарату, що заявляється, і препарату-прототипу

Препарат	Вміст лактобацил в секреті піхви, МК/см ³		
	До лікування	Через 24год.	Через 48год.
1. Препарат, що містить іммобілізовані на глиноземі лактобацили та фітодобавки	$1,2 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^6$	$3,6 \cdot 10^7$
2. Препарат, що містить іммобілізовані на глиноземі лактобацили	$1,2 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^6$	$7,1 \cdot 10^6$
3. Неіммобілізовані лактобацили (прототип)	$1,2 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^6$	$4,0 \cdot 10^4$

Як показують результати таблиці 3, кращі клінічні показники отримані для препарату (1), який відповідає препарату, що заявляється.

Ще однією задачею винаходу, що заявляється, є створення способу одержання препарату для лікування

бактеріального вагінозу шляхом такого сполучення дій і режимів їхнього здійснення, що дозволяє одержати препарат, що володіє високою лікувальною ефективністю і стійкістю до збереження при звичайних умовах.

Поставлена задача вирішується тим, що в спосіб одержання препарату для лікування бактеріального вагінозу, згідно з винаходом, спочатку одержують мікробну масу лактобацил і одного або декількох родів еубіотичних бактерій, обраних із групи: біфідобактерій, стрептококів і лактококів, причому їх вміст в 1г мікробної маси складає 10^{10} - 10^{11} кліток. Потім отриману мікробну масу бактерій іммобілізують на прийнятному в медицині сорбенті при його співвідношенні до мікробної маси бактерій (9-1):(1-9), після чого в масу, що утворилася, вводять захисне середовище в необхідній кількості і біологічно активну добавку в кількості 0,05-3,0% щодо маси одержуваного препарату. Продукт, що утворився, піддають ліофільному сушінню в режимі, що відповідає роду використовуваних мікроорганізмів, після чого висушену масу змішують з прийнятною жирною основою, що містить менш 5% води і що має рН4,5-7,0 і взятої в кількості, що відповідає вмісту 10^5 - 10^9 МК в одній дозі препарату.

Авторами передбачено, що 1г мікробної маси повинен містити лактобацили і біфідобактерії та/або стрептококи, та/або лактококи в кількості 10^{10} - 10^{11} кліток.

Це обумовлено тим, що при зазначених умовах на 1 частці сорбенту повинно розміститися 10-40МК, або повинен утворитися конгломерат, що включає співрозмірні частки сорбенту і бактерії, що відповідає одержанню препарату з максимально корисними властивостями. Або, іншими словами, із зазначеної мікробної маси можливо одержати препарат з 10^5 - 10^9 МК в одній дозі, що, як показано вище, в сполученні з іншими інгредієнтами препарату відповідає найбільшій його клінічній ефективності.

Інші умови здійснення способу одержання препарату для лікування бактеріального вагінозу зводяться до такої послідовності змішування компонентів, яка забезпечує високу життєздатність бактерій, достатню їх колонізацію на слизуватій піхви, адгезію й в цілому високу біологічну активність.

Що стосується співвідношення сорбенту до мікробної маси, то воно обумовлено рентабельністю одержання ефективною лікувальною дозою.

Спосіб одержання препарату для лікування бактеріального вагінозу підтверджується прикладом конкретного виконання.

Приклад 1

Препарат, що заявляється, одержують в кілька етапів. Спочатку одержують мікробну масу лактобацил, біфідобактерій та/або стрептококів, та/або лактококів, причому вміст їх у 1г мікробної маси складає 10^{10} - 10^{11} кліток.

Потім одержану мікробну масу іммобілізують на сорбенті, зокрема, на смектиті натрію з розміром часток, що не перевищує 100мкм. Цей процес виконують за допомогою ретельного перемішування.

Співвідношення мікробної маси до смектиту натрію складає 9:1.

Потім масу, що утворилася, змішують із цукрово-желатиномолочним середовищем, взятим в кількості 0,02% щодо одержуваної маси препарату, і з 2,5% ефірної олії шавлії щодо одержуваної маси препарату.

Після цього отриманий продукт піддають ліофільному сушінню в піддонах.

Висушений продукт змішують з жирною основою, наприклад, такою, що містить 90мас.% олії какао і 10мас.% ланоліну, при цьому в жирну основу вводять, наприклад, лимонну кислоту до рН6,5. Жирна основа має вологість менше 5%.

З отриманої маси формують супозиторії вагою від 1г до 1,5г.

Мазь одержують по описаній вище методиці з тою різницею, що як жирну основу використовують будь-яку прийнятну мазеву основу.

Наступною задачею винаходу, що заявляється, є створення способу лікування і профілактики бактеріального вагінозу шляхом використання препарату, описаного вище, в результаті чого досягається висока клінічна ефективність лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що в спосіб профілактики і лікування бактеріального вагінозу, згідно з винаходом, інтравагінально вводять препарат по пп. 1-7, який містить лактобацили та один або кілька родів еубіотичних бактерій, вибраних з групи: біфідобактерій, стрептококи і лактококи в кількості 10^5 - 10^9 живих кліток на одну дозу, причому препарат вводять 1-3 рази на добу в кількості 1-3 доз, а курс лікування визначають індивідуально в залежності від ступеня поразки слизуватої піхви.

У цьому способі лікування бактеріального вагінозу з використанням препарату, що містить 10^5 - 10^9 МК в 1 дозі та інші відповідні компоненти, визначений добовий прийом, що складає 1-3 дози в залежності від тяжкості захворювання. У випадку профілактичного використання добовий прийом препарату може складати 1 дозу.

Курс лікування визначають в кожному випадку індивідуально в залежності від об'єктивних показників тяжкості захворювання й отриманих результатів лікування.

Ефект лікування може бути посилений попереднім зрошенням піхви, наприклад, фізіологічним розчином або відваром лікувальних трав при рН4,5-5,5. Така процедура є доцільною, оскільки спрямована на механічне виведення слизу умовно патогенних мікробів. Після проведення такого очищення доступ препарату, що заявляється, у вигляді супозиторію або крему до ураженої слизуватої полегшується.

Крім того, додатковий позитивний результат спостерігається при попередній обробці піхви суспензією прийнятного сорбенту, роль якої складається в посиленні ефекту, що очищає, і підготовки слизуватої для колонізації бактерій, що вводяться.

У тих випадках, коли поряд з бактеріальним вагінозом мають місце супутні захворювання, можливо попередньо проводити лікування, наприклад, антифунгіцидними або іншими лікарськими засобами.

Були проведені дослідження, спрямовані на визначення мікробіологічної ефективності корекції мікробіоценозу піхви жінок із симптомами бактеріального вагінозу.

Під спостереженням знаходилися 19 жінок із симптоматикою бактеріального вагінозу, вираженого в зниженні чи відсутності лактобацил, у наявності ключових кліток (більш 10 в полі зору), в кількості гарднерел у 1г виділень більш 10^6 , у сверблячці.

Хворі були розділені на три рандомізовані групи. Перед введенням препаратів піхви попередньо очищали

фізіологічним розчином, доведеним за допомогою додавання соку лимона до рН 5,0.

Першій групі жінок інтравагінально вводили препарат, що заявляється, у вигляді мазі в кількості 1г 2 рази на добу протягом 5 діб.

Другій групі жінок вводили суспензію лактобацил у фізіологічному розчині при рН 5,0 протягом 5 діб.

І, нарешті, третя група жінок була контрольною - їм вводили мазеву основу препарату також протягом 5 діб.

Критеріями позитивної дії лікування вважали:

- доведення лактобацил до нормальної концентрації (10^7 на 1г виділень);
- відсутність або зниження кількості ключових кліток;
- зниження популяції гарднерел до 10^{2-3} ;
- припинення сверблячки.

В таблиці 4 представлені отримані результати.

Таблиця 4

Результати лікування хворих бактеріальним вагінозом

Метод лікування	Кількість жінок у групі	Критерії видужання			
		Сверблячка	Кількість ключових кліток	Кількість гарднерел	Кількість лактобацил
Препарат, що заявляється	4	Немає	Немає	10^2	$>10^7$
Лактобацили в суспензії	4	+	6-9	$>10^3$	$<10^7$
Мазева основа	4	++	10-12	$>10^7$	$<10^3$
До лікування	12	+++	>10	$>10^7$	$<10^3$

Отримані результати (табл.4) свідчать про те, що при застосуванні лікування за допомогою препарату, що заявляється, через 5 діб нормалізується піхвовий мікробіоценоз, що підтверджується мікробіологічними показниками й одним з елементів клінічної характеристики.

Для порівняння - при лікуванні суспензією лактобацил відзначене деяке поліпшення за досліджуваними критеріями, однак нормалізації мікробіоценозу не відбулося.

Мазева основа в порівнянні з вихідним станом хворих поліпшення не дала.

Таким чином, запропонований препарат для лікування бактеріального вагінозу виявив високі клінічні характеристики, спосіб його одержання спрямований на забезпечення високої ефективності лікування. І, крім того, склад препарату й особливості його одержання забезпечують спрощені умови його збереження з одночасним збільшенням термінів збереження.

Спосіб лікування бактеріального вагінозу довів високі позитивні клінічні результати препарату, що підтверджено об'єктивними критеріями видужання хворих.