

- (11) Patento numeris: **6763** (51) Int. Cl. (2020.01): **A61K 35/00**
A61P 15/00
- (21) Paraiškos numeris: **2018 572**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2018-12-20**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2020-07-10**
- (45) Patento paskelbimo data: **2020-09-10**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: —
- (72) Išradėjas:
Laisvūnas RAŽANSKAS, LT
- (73) Patento savininkas:
UAB „Laifarma“, Žirnių g. 26F, 02120 Vilnius, LT
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Reda ŽABOLIENĖ, METIDA, Verslo centras „VERTAS“, Gynėjų g. 16, LT-01109 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Probiotikų ar probiotikų lizatų kartu su galeniniais komponentais ir lizocimu panaudojimas įvairios etiologijos vulvovaginitų simptominiam gydymui, makšties epitelio regeneracijai

- (57) Referatas:

Išradimas yra farmacinė kompozicija sudaryta iš probiotinių, galeninių komponentų ir lizocimo. Naudojamas gydyti vietiskai. Kompozicija turi priešuždegiminį, antibakterinį, priešgrybelinį, epitelį atstatančius efektus. Šį preparatą galima naudoti kartu su antibiotikais bakterinio vaginito ar kandidozinės vulvovaginozės gydymui / prevencijai, o taip pat ir po antibiotikų kurso siekiant atstatyti natūralų makšties mikrofloros balansą.

Išradimo sritis

Šis išradimas yra susijęs su probiotikų kompozicija, apimančia natūralius ekstraktus (galeninius preparatus), lizocimo hidrochloridą ir probiotines bakterijas arba probiotinių bakterijų lizatus ir skirta panaudoti lokaliai įvairios etiologijos vaginito ir vulvovaginito bei jų sukeltų simptomų gydymui, taip pat po antibiotikų vartojimo, siekiant užkirsti kelią makšties disbakteriozei bei jos sukeltiems simptomams bei makšties epitelio regeneracijai.

Technikos lygis

Bakterinis ir kandidozinis vulvovaginitai ir makšties epitelio pakitimai yra vienos iš dažniausių problemų, dėl kurių darbingo amžiaus moterys kreipiasi į medikus. Per paskutinius 10 metų moterų skaičius, kurioms pasireiškė bakterijų ar *Candida* grybelio sukeltas vulvovaginitas, sudaro 30-45 % visų su išoriniais moteriškai lytiniais organais ir makštimi susijusių infekcinių ligų. Vieni iš dažniausių šios infekcijos simptomų yra uždegiminiai procesai ir gleivinės sutrikimai.

Kandidozinį vulvovaginitą sukelia *Candida* padermės mieliagrybiai. Šiuo metu yra suskaičiuojama daugiau nei 170 rūšių mieliagrybių. *C. Albicans* yra viena iš dažniausiai (85-90 %) kandidozinį vaginitą sukeliančių mieliagrybių rūšių. Kitos rūšys yra *C. Glabrata* (5-10 %), *C. Tropicalis* (3-5 %), *C. parapsilosis* (3-5 %) and *C. krusei* (1-3 %).

Daug papildomų veiksnių gali sąlygoti vulvovaginito pasireiškimą. Vieni iš tokių veiksnių yra ilgas, nekontroliuojamas antibiotikų vartojimas, kortikosteroidai, citostatikai, geriamieji kontraceptikai, radioterapija, sunkios infekcinės ligos, endokrininės sistemos sutrikimai, imunodeficitinė būklė ir daug kitų. Paskirti plataus spektro antibiotikai slopina ne tik patologines bakterijas, tačiau ir normalios makšties mikrofloros atstovus: *Lactobacillus* ir *Bifido* bakterijas. Todėl didėja makšties pH ir sutrinka valymosi procesai. Taip pat *Candida* rūšies mieliagrybiai gali naudoti kai kurias antibiotikų rūšis, kaip maistines medžiagas.

Dėvint aptemptus sintetinius apatinius yra pasiekama aukšta temperatūra ir didelė drėgmė, o tai yra palankios sąlygos vystytis kandidoziniam vulvovaginitui.

Bakterinė vaginozė taip pat yra dažna endogeninė infekcija, dėl kurios moterys kreipiasi į medikus. Vaginozė dažnai sukelia nėštumo komplikacijas ir yra

susijusi su dubens uždegiminėmis ligomis ar padidėjusia rizika užsikrėsti žmogaus imunodeficito virusu.

Iki šiol dar nėra žinoma, ar dažnai pasireiškianti bakterinė vaginozė yra naujai pasireiškianti infekcija, ar ta pati, tačiau išryškėjanti epizodais. Tačiau tyrimai paneigia teoriją apie seksualinių santykių ir vaginozės pasireiškimo ryšį. Taip pat tyrimai rodo, jog pasikartojantys infekcijos epizodai greičiausiai yra tos pačios infekcijos atkryčiai. Moterims, kurioms pasireiškia atkryčiai skundžiasi nenormaliomis makšties išskyromis gydymo pabaigoje. Net moterims, kurios nejaučia jokių simptomų ir laiko save pasveikusiomis po gydymo, dažniausiai lieka pakitusi vaginalinė flora. Kuo daugiau pakitusi ši flora, tuo didesnis infekcijos pasikartojimo šansas.

Bakterijų augimą makštyje kontroliuoja pH ir hormonų balansas. Bet kas, kas sutrikdo šį balansą didina riziką infekcijos pasikartojimui. Balansui gali turėti įtakos antibiotikų bei kontraceptikų vartojimas, diabetas, stresas.

Lytiškai plintančios ligos, tokios kaip gonorėja ar chlamidijos, taip pat gali sukelti pakitusias vaginalines išskyras. Kiti galimi simptomai, kaip uždegimas ar niežėjimas, atsiranda dėl kvapių prausiklių, tamponų, įklotų naudojimo. Šiuos simptomus taip pat gali sukelti tokios neužkrečiamos ligos, kaip diabetas ar menopauzė (atrofinis vaginitas).

Šiuo metu kandidozinis vulvovaginitas yra gydomas kelių grupių priešgrybeliniais ir antibiotiniais vaistais. Imidazolų grupės antibiotikais: klotrimazoliu, mikonazoliu, oksikonazoliu, bifonazoliu, ekonazoliu, omokonazoliu, fenikonazolu, isokonazoliu, terkonzoliu, tiokonazoliu, tiokonazoliu, ketokonazoliu. Alkilaminais : naftifinu. Polienais : amfotericinu B, nistatinu, levorinu, natamicinu. Triazolamais: flukonazoliu, itrakonazoliu ar kitais, fungistatiniais ir fungicidiniais preparatais (Bradshaw C S., Morton A N., Hocking J, Garland S M, Morris M B, Moss L M, Horvath L B, Kuzevska I, Fairley C K. (2006). High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. J. Infect. Dis. 193, 1478-1486).

Visi šie antimikrobiniai preparatai įeina į farmacinių formų, skirtų lokaliai vaginito ir vulvovaginito gydymui, sudėtį.

Dauguma antibiotikų paveikia tiek bakterinę, tiek grybelinę makšties fauną, o

tai gali turėti įtakos šalinamojo trakto infekcijų pasireiškimui ar kandidozinio vagino atsiradimui. Naujųjų makrolidų grupės antibiotikų poveikis makšties florai dar nėra ištirtas, todėl nėra mokslinių tyrimų atliktų nustatant jų poveikį makšties laktobakterijoms. Atlikto tyrimo metu jaunoms moterims (18-45 metų), kurioms nebuvo pasireiškę jokie simptomai būdingi makšties patologijoms, buvo nustatyta anaerobinių, aerobinių ir grybelių kultūros makštyje prieš pradedant vartoti antibiotikus. Po 4-6 savaičių gydymo antibiotikais, buvo paimti mėginiai iš tiriamųjų moterų ir rezultatai palyginti. Laktobakterijų, kurios prieš gydymą sudarė 33 % makšties floros, neliko. *E. Coli* prieš gydymą buvo 8 %, tačiau po gydymo padidėjo iki 17 %. *Enterococcus* nuo 25 % sumažėjo iki 8 %. *Candida* mieliagrybių, kurie dažniausiai ir sukelia vaginozes padidėjo nuo 17 % prieš gydymą iki 33 % po gydymo antibiotikais. Šie bandymai buvo atlikti naudojant klaritromiciną, tačiau gauti rezultatai yra panašūs ir su senesniais antibiotikais (Wilson J: Managing recurrent bacterial vaginosis. Sex Transm Infect 2004, 80(1):8-11).

Antibiotikai gali sunaikinti bakterijas, kurios apsaugo makštį ar pakeisti jų balansą. Vaginalinė grybelinė infekcija gali išsivystyti per ar po antibiotikų gydymo kurso. Dėl sisteminio antibiotikų preparatų veikimo, vaginalinė grybelinė infekcija gali išsivystyti ir po anginos gydymo antibiotikais.

Diabetas gali mažinti glikogeno atsargas makšties sienelės ląstelėse. Ši liga taip pat gali pakelti makšties pH, taip padidinama rizika išsivystyti vaginalinei grybelinei infekcijai.

Sumažėjęs *Lactobacillus* bakterijų kiekis yra siejamas su sumažėjusiu substratų kiekiu, dėl padidėjusio pH, nes vyrauja intensyvus oportunistinių bakterijų dauginimasis, kurios normaliomis sąlygomis yra sulaikomos pieno rūgšties išskyrimo pagalba.

Mechaninis makšties sienelės pažeidimas gali būti labai pavojingas. Jis gali būti viena iš pagrindinių sąlygų infekcijoms ir uždegiminėms reakcijoms. Tokie pažeidimai įmanomi dėl sumažėjusio makšties apsauginio barjero funkcijos.

Sutrikimai makštyje atveria priegą patologiniams organizmams patekti į gimdą. Dėl ko pacientės gali patirti hormonų balanso sutrikimus ar kitas reprodukcinio trakto infekcijas).

Šiuolaikinė visuomenė vis daugiau renkasi natūralias medžiagas nei

cheminės, kovojant su bakterinėmis infekcijomis. Siekiant išvengti neigiamo antibiotinių ar sintetinių antiseptikų poveikio, yra renkamosi biologiškai aktyvūs natūralūs augaliniai junginiai, kaip gydymo alternatyva. Vaginalinės žvakutės turi daug privalumų: gali būti išlaikytas vaisto formos vienodumas, nereikalingas didelis kiekis skysčio atpalaiduoti vaistinei medžiagai. Tai įrodyta sukuriant dvigubo sluoksnio vaginalines žvakutes į kurių sudėtį įeina *Lactobacillus* bakterijos ir paprastosios kraujažolės (*Achillea millefolium*) ekstraktas.

Laktobakterijų naudojimo efektyvumas gydant bakterinę vaginozę buvo patvirtintas klinikiniais tyrimais. Dauguma tyrimų, kurie parodė teigiamus rezultatus, buvo atlikti naudojant dideles dozes laktobakterijų. Iš to galime teigti, jog preparato efektyvumui svarbu ne tik kultūrų charakteristikos, bet ir jų kiekis.

Išradimo esmė

Išradimo tikslas buvo sukurti efektyvią kompoziciją, skirtą bakterinio bei kandidozinio vulvovaginito simptominiam gydymui bei prevencijai bei antibiotikų ar kitų veiksmų sukeltos makšties disbakteriozės gydymui. Rezultatas pasiektas naudojant priešuždegimines, priešgrybelines ir probiotines medžiagas vietiniam poveikiui sukelti vaginalinės žvakutės forma. Naudojant šią kompoziciją yra pasiekiamas sinergistinis terapinis efektas: stimuliuojama normali makšties mikroflora ir yra inhibuojamos ir eliminuojamos patogeninio *Candida* grybelio kolonijos.

Pagrindinis tikslas yra sukurti probiotikų, natūralių ekstraktų ir lizocimo hidrochlorido kompoziciją ginekologinių infekcijų profilaktikai ir (arba) gydymui.

Kompozicija apima ne mažiau kaip vieną baktericidinį komponentą, kurio koncentracija yra nuo 0,0001 % iki 3% (svorio / tūrio) kompozicijos masės.

Kompozicija apima probiotikus, kurių koncentracija yra nuo 0,5 % iki 20 % (svorio / tūrio) kompozicijos masės.

Kompozicija apima natūralius priešuždegiminį poveikį turinčius ekstraktus, kurių koncentracija yra nuo 0,0001 % iki 10 % (svorio / tūrio) kompozicijos masės.

Detalus išradimo aprašymas

Šis išradimas yra susijęs su pateikta kompozicija, apimančia probiotikus ar probiotikų lizatus, lizocimą, alijošiaus, morkų bei šaltalankio ekstraktus, bei pagalbines medžiagas. Kompozicija apima 10-30 mg išgryninto vandens, 10-40 mg

lizocimo hidrochlorido, 30-70 mg alijošiaus ekstrakto, 10-30 mg morkų ekstrakto, 10-30 mg šaltalankio ekstrakto, 50-90 mg probiotikų lizato, 300-500 mg emulsiklio (cukrozės stearato), dažiklio (titano dioksido), 1000-1400 mg pagalbinių medžiagų.

Aukščiau minėtos pagalbinės medžiagos yra parinktos iš trigliceridų, išgryninto vandens, hidrintų sojos pupelių ir medvilnės sėklų aliejaus.

Viename iš išradimo įgyvendinimo variantų, farmacinė kompozicija apima 20 mg išgryninto vandens, 20 mg lizocimo hidrochlorido, 50 mg alijošiaus ekstrakto, 10 mg morkų ekstrakto, 10 mg šaltalankio ekstrakto, 70 mg (min $1,5 \times 10^9$ ovulėje) probiotikų lizato, 400 mg emulsiklio (cukrozės stearato), 1188 mg baltų bekvapių kietųjų riebalų ir augalinių priemonių.

Eksperimentiniai modeliai ir klinikiniai tyrimai terapiniam poveikiui nustatyti

Šiuo išradimu buvo siekiama sukurti efektyvią kompoziciją, apimančią priešuždegimines, epitelio regeneraciją skatinančias ir baktericidinį / bakteriostatinį poveikį turinčias medžiagas vaginalinės žvakutės formos. Išradimo sudėtyje yra aliejų, kurie padengia epitelį ir suformuoja barjerą, kuris mechanškai apsaugo nuo mechaninių ir biologinių pažeidimų. Šie aliejai taip pat turi karotenoidų, kurie pasižymi stipriu regeneraciją skatinančiu poveikiu.

Kompozicijos sudėtis

Junginys	Sudėtis
Lizocimo hidrochloridas	10-40 mg
Alijošiaus ekstraktas	30-70 mg
Morkų ekstraktas	10-30 mg
Šaltalankio ekstraktas	10-30 mg
Probiotikų lizatas	50-90 mg
Cukrozės stearatas	300-500 mg
Pagalbinės medžiagos	1000-1400 mg

Aliejai su karotenais yra naudojami gydant genitalinių organų ar gimdos uždegimus. Klinikiniai tyrimai atlikti su superkritiniu masių (anglies dioksido) metodu

išgautu aliejumi turėjo stimuliacinį poveikį serumo lipidams, lipoproteinams, uždegimo žymenims ir trombocitų formavimuisi. Patikrinti šią teoriją buvo atliktas dvigubai aklas, randomizuotas, keliose gydymo įstaigose atliktas tyrimas su moterimis kenčiančiomis nuo Sjögren's sindromo. Šio tyrimo metu naudotas šaltalankių ekstraktas gausus beta karotenais sumažino su sausumu siejamus simptomus. Tai pat tyrimas patvirtino šaltalankio aliejaus efektyvumą atstatant makšties normalią būklę, įskaitant kaip alternatyvą atkuriant makšties epitelį moterims, kurios negali vartoti pakaitinės estrogenų terapijos esant makšties atrofijai. Šis tyrimas yra statistiškai reikšmingas ($P=0,08$), o makšties sveikatos indeksas ryškiai labiau padidėjo, grupėje, kuri vartojo šaltalankio ekstraktą $[(0,8(\text{SD } 2,8))]$ lyginant su placebo grupe $[-0,1(\text{SD } 2,0)]$.

Lyginant su placebo grupe buvo pastebėtas reikšmingas makšties epitelio vientisumo padidėjimas naudojant aliejus su beta karotenais. Į tyrimą buvo įtrauktos pacientės, kurios skundėsi makšties patologijomis ir toks kurios nusiskundė ($\text{OR}=3,1$, 95 % CI 1,11-8,95). Taip pat buvo pastebėta statistiškai reikšminga tendencija ($P=0,008$), ties makšties sveikatos indekso padidėjimu naudojant aliejus su beta karotenu $[(0,8 (\text{SD } 2,8))]$ lyginant su placebo $[-0,1(\text{SD } 2,0)]$.

Augalinės prieš uždegiminės medžiagos inhibuoja uždegimą ir apsaugo nuo užsitęsusio uždegimo proceso.

Išgryninti aloe baltymai gauti iš alijošiaus ekstrakto turi priešgrybelinį poveikį ir veikia *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* ir *Candida albicans*. Papildomai šie baltymai turi ir prieš uždegiminį poveikį, kuris pasireiškia inhibuojant fermentus lipoksidazę ir ciklooksigenazę. Dėl šių savybių gali būti naudojami, kaip viena iš šiems sutrikimams skirtų gydyti vaistų sudedamųjų dalių.

Alijošius turi ne tik prieš uždegiminį, bet ir plataus spektro antimikrobinį veikimą. In vitro eksperimentai su daugeliu mikroorganizmų, tokių kaip *Candida* grybelių štamai ar *E. Coli*, parodė, jog alijošius turi tiek bakteriocidinį, tiek bakteriostatinį poveikį.

Alijošiaus baltymų poveikio stiprumas lygintas su kontroline grupe, kuri buvo paveikta flukonazoliu. Šis bandymas patvirtino alijošiaus priešgrybelinį poveikį. Tyrimo metu koncentracija kai yra inhibuojama pusė bakterijų (IC_{50}) buvo *C. parapsilosis* 252_M, *C. albicans* 75,61_M, o *C. krusei* 50,41_M.

Priešuždegimiškai veikiančios medžiagos neleidžia formuotis skausmui, niežėjimui ar blogo kvapo išskyroms iš makšties.

Alijošiaus baltymai inhibuoja COX-2 ir LOX fermentus, taip sukeldami priešuždegiminį poveikį ir jų poveikio stiprumas ir disocijacijos konstanta yra palyginta su gerai žinomu COX-2 inhibitoriumi, nesteroidiniu vaistu nuo uždegimo, – diklofenaku.

Lizocimas turi antibakterinį poveikį prieš organizmus susijusius su maisto saugumu, įskaitant *Listeria monocytogenes* ir *Clostridium botulinum*. Šiuo tyrimu taip pat nustatyta, jog *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Bacillus stearothermophilus* ir *Clostridium tyrobutyricum* atsakingos už maisto gedimą, taip pat yra labai jautrios lizocimui. Tačiau tokios bakterijos gram-teigiamos ir gram-neigiamos bakterijos išskirtos per maisto apsinuodijimo protrūkius, kaip *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella typhimurium* ir *Yersinia enterocolitica* buvo atsparios.

Lizocimas paveikia bakterijos sienelės ląsteles. Šis baltymas yra efektyviausias prieš gram-teigiamas bakterijas, tokias kaip *Staphylococci* ir *Streptococci*. Gram neigiamos bakterijos kaip *E. Coli* ir *Salmonella* taip pat paveikiamos. Šis komponentas gali būti naudojamas tiek bakterinių, tiek virusinių infekcijų slopinimui.

Lizocimas yra žinomas kaip efektyvus imunitetą stiprinantis junginys. Jis yra naudojamas gydant bakterines ir virusines kilmės infekcijas. Lizocimas turi analgetinį poveikį ir gali būti vartojamas sustiprinti antibiotikų veikimą.

Atlikti tyrimai su penkiolika normaliai ir aštuoniolika per anksti gimusių kūdikių. Jiems buvo duota lizocimo išskirto iš kiaušinio baltymo, kartu su pieno mišiniu (10mg/100ml) nuo pirmos iki aštuntos savaitės, kaip pakaitalą lizocimui gaunamam su mamos pienu. Tuomet buvo stebima imunoglobulinų sintezė. Trylika pilnai išnešiotų, tiek pat anksčiau gimusių vaikų alternatyviai maitintų (pieno mišinys, be lizocimo) ir dvidešimt krūtimi maitintų naujagimių buvo pasirinkti, kaip kontrolė. Sprendžiant, kad kūdikis per dieną suvartoja 600-900 ml pieno, jo gaunamo lizocimo kiekis yra 60-90mg. Kūdikiai nepatyrė jokių ligos požymių. Nebuvo nustatyta ir didelio skirtumo tarp serumo imunoglobulinų kiekio lyginant su kontroline grupe. Sekretiniai IgA buvo rasti išmatose tiek kūdikių, kurie buvo maitinti lizocimu, tiek kurie buvo

maitinti krūtimi. Kitose grupėse (normaliai gimę, maitinti pieno mišiniu be lizocimo, per anksti gimę maitinti pieno mišiniu be lizocimo) buvo atrasta tik sekretinio IgA pėdsakų. Atliekant tyrimus nebuvo aptikta antikūnų lizocimu maitintų vaikų mėginiuose.

Lizocimas turi analgetinį poveikį ir gali būti naudojamas stiprinti antibiotinių preparatų poveikį. Kitas poveikis – rūgštinių medžiagų neutralizacija, kurios susidaro esant uždegimui, taip slopindamas jį. Šis junginys skatina žaizdų gijimą, fagocitozę, slopindamas degeneracinius ir nekrotinius procesus, mažindamas mastocitų degranuliaciją, slopina histamino išskyrimą ir edemų susidarymą.

Laktobakterijų išskiriama pieno rūgštis turi stiprų mikrocidinį poveikį. Deja anksčiau atlikti tyrimai nustatant makšties rūgštingumo lygį pateikia neviseškai tikslus rezultatus, nes jų metu nebuvo išskirtos moterys, kurių makšties mikrofloroje nedominavo laktobakterijos, o taip pat neatsižvelgta į aukštą anglies dioksido ir žemą deguonies aplinką makštyje.

Naujesniame tyrime buvo tirtos penkiasdešimt šešios moterys, kurių tyrimai pagal Nuget'o skalę įvertinti nuo 1 iki 3 ir neturėjo jokių reprodukcinio trakto infekcijų simptomų. Cervikovaginaliai mėginiai buvo imami metodu, kuris nereikalauja skiedimo, todėl žymiai sumažėja tikimybė užteršti aerobinėmis bakterijomis. Mėginių pH buvo matuojama mikroelektrodu, iškarto po surinkimo, CO₂ koncentracija buvo lygi fiziologiniam makšties lygiui. Taip pat mėginiuose buvo tiriama laktato koncentracija. Vidutinė pH reikšmė buvo nustatyta $3,5 \pm 0,3$, o vidutinė laktato koncentracija $1,0 \% \pm 0,2 \% \text{ w/v}$. Tai yra penkis kartus didesnė vandenilio jonų (pH) ir laktato koncentracija. Mikrobinė pieno rūgšties forma buvo vienuolika kartų labiau koncentruota ir žymiai stipresnė, nei iki tol atliktai tyrimais. Iš to galime teigti, kad kai laktobakterijos dominuoja makšties mikrofloroje, makštyje yra žymiai daugiau pieno rūgšties, kuri apsaugo nuo pataloginių mikroorganizmų įsitvirtinimo.

Bakterinė vaginozė yra viena plačiausiai paplitusių makšties infekcijų pasaulyje ir yra charakterizuojama, kaip natūralioje makšties mikrofloroje esančių laktobakterijų sumažėjimas. Gydytas antibiotiniais vaistais dažnai būna neefektyvus. Mes teigiame, kad *Bacillus coagulans* gali stiprinti antimikrobinių vaistų veikimą ir padidinti išgijimo laipsnį. Atliktų tyrimu metu, buvo tirta 40 moterų, kurioms buvo diagnozuotas bakterinis vaginitas, taip pat pasireiškė simptomai: baltos spalvos išskyros, pH padidėjo daugiau nei 4,7 karto, deginantis jausmas, niežėjimas,

patinimas ir paraudimas išoriniuose lyties organuose. Kaip kontrolė pasirinkta grupė, kuri buvo gydoma vien antibiotiku. Gydomo pabaigoje 80% prebiotinės grupės pacienčių sumažėjo vaginozės simptomai, palyginus su kontroline grupe, kurioje tokių buvo tik 45 %.

Tyrimo, kuriame buvo tirtas laktobakterijų efektyvumas po antibiotikų vartojimo metu, buvo tirtos moterys vartojančios antibiotikus 7 dienas. Moterys buvo padalytos į dvi grupes. Viena grupė vartojo antibiotikus ir probiotikus, ir kontrolinė, kuri vartojo tik antibiotikus. Kaip probiotikas buvo pasirinktos laktobakterijos, o farmacinė forma vaginalinės kapsulės. Mėginiai buvo surinkti prieš pradedant gydymą ir 4 savaitės po gydymo antibiotikais. Buvo gautas reikšmingas skirtumas palyginus pradinius ir galutinius mėginius tarp grupių ($P < 0,001$). Vidutinis skirtumas tarp mėginių bandymo grupėje buvo 6,61, o kontrolinėje 4,13. Šie duomenys leidžia teigti, jog laktobakterijos padeda greičiau atstatyti makšties florą po antibiokitų vartojimo.

Randomizuoto, dvigubai aklo, placebo kontroliuojamo tyrimo metu buvo vertinamas makšties pieno rūgšties bakterijų kolonizavimas ir klinikiniai požymiai. Laktobakterijos buvo paskiriamos vaginalinės kapsulės forma iškart po vaginito ar vulvovaginito gydymo antibiotikais. Vulvovaginalinės apžiūros ir makšties mėginiai buvo atliekami po vaisto vartojimo, po pirmo ir antro menstruacijų ciklo ir po šešių mėnesių. Apibendrinant po penkių dienų laktobakterijų vartojimo mėginiai parodė, jog bakterijos kolonizavo makštį, todėl moterims pasireiškė mažiau atkryčių ir pakitusių išskyrių.

Nors šiuolaikiniai gydymo infekcijų metodai yra veiksmingi, tačiau daug mokslinių straipsnių autorių teigia, kad gydant bakterinį vaginitą būna dažnai nesėkmingi. Dažniausios nesėkmės matosi tiriant ilgą laiko tarpą po infekcijos, kai „tarpinė mikroflora“ neparodo norimo atsako į gydymą, todėl aukščiau pateikta kompozicija padeda išspręsti šias problemas.

Šaltiniai

1. Srinivasan S., Fredricks D.N. (2008). The human vaginal bacterial biota and bacterial vaginosis. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* 2008; 750479. Epub 2009 Feb 16.
2. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetriciangynecologists, Number 72, May 2006: Vaginitis. *Obstet Gynecol* 2006, 107(5):1195-1206.
3. Kane KY, Pierce R: What are the most effective treatments for bacterial vaginosis in nonpregnant women? *J Fam Pract* 2001, 50(5):399-400.
4. Joesoef MR, Schmid G: Bacterial vaginosis. *Clin Evid* 2004, , 11: 2054-2063.
5. Larsson PG, Forsum U: Bacterial vaginosis—a disturbed bacterial flora and treatment enigma. *Apmis* 2005, 113(5):305-316.
6. Minkoff H, Brunebaum AN, Schwartz RH, Feldman J, Cummings M, Crombleholme W, et al. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984;150:965–72.
7. Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:139–47.
8. Berger B. J., Kolton S., Zenilman J. M., Cummings M. C., Feldman J., McCormack W. M. Bacterial vaginosis in lesbians: a sexually transmitted disease. *Clin. Infect. Dis.* 1995;21:1402–1405.
9. Eschenbach DA, Thwin SS, Patton DL, Hooton TM, Stapleton AE, Agnew K, et al. Influence of the normal menstrual cycle on vaginal tissue, discharge, and microflora. *Clin Infect Dis.* 2000;30:901–7. Farage M, Maibach H. Lifetime changes in the vulva and vagina. *Arch Gynecol Obstet.* 2006;273:195–202.
10. Beigi R H., Austin M N., Meyn L A., Krohn M A., Hillier S L. (2004). Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 191, 1124-1129.

11. Bradshaw C S., Morton A N., Hocking J, Garland S M, Morris M B, Moss L M, Horvath L B, Kuzevska I, Fairley C K. (2006). High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J. Infect. Dis.* 193, 1478-1486.
12. Wilson J: Managing recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect* 2004, 80(1):8-11.
13. Amar J, Serino M, Lange C, Chabo C, Iacovoni J, Mondot S, Lepage P, Klopp C, Mariette J, Bouchez O, et al. Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept. *Diabetologia*. 2011;54:3055–3061.
14. Hu B, Elinav E, Huber S, Strowig T, Hao L, Hafemann A, Jin C, Wunderlich C, Wunderlich T, Eisenbarth SC, et al. Microbiota-induced activation of epithelial IL-6 signaling links inflammasome-driven inflammation with transmissible cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110:9862–9867.
15. Pashayan M M. Formulation and investigation of vaginal double layer suppositories containing lactobacilli and herbal extracts. *THE new armenian Medical joirnal*. 2011 (5) 2: 54 – 59.
16. Mastromarino P, Macchia S, Meggiorini L, Trinchieri V, Mosca L, Perluigi M, Midulla C (2009). Effectiveness of Lactobacillus containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, 67-74.
17. Baranska M, Schulz H, Baranski R, Nothnagel T, Christensen LP. In situ simultaneous analysis of polyacetylenes, carotenoids and polysaccharides in carrot roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53 (17): 6565–6571. Castelo-Branco C, Cancelo MJ, Villero J, Nohales F, Julia MD. Management of post-menopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis. *Maturitas*, 2005;52S:S46–52.
18. Freeman MP, Hibbeln JR, Silver M, Hirschberg AM, Wang B, Yule AM, et al. Omega-3 fatty acids for major depressive disorder associated with the menopausal transition: a preliminary open trial. *Menopause* 2011;3:279–84.
19. Biesalski HK, Grune T, Tinz J, Zöllner I, Blumberg JB. Reexamination of a Meta-Analysis of the Effect of Antioxidant Supplementation on Mortality and Health in Randomized Trials. *Nutrients*. 2010 Sep; 2(9): 929–949.

20. Swagata Dasa, Biswajit Mishraa, Kamaldeep Gill a, Md. Saquib Ashrafa, Abhay Kumar Singha, Mou Sinhaa, Sujata Sharmaa, Immaculata Xessb, Krishna Dalala, Tej Pal Singha, Sharmistha Dey. Isolation and characterization of novel protein with anti-fungal and anti-inflammatory properties from Aloe vera leaf gel. *International Journal of Biological Macromolecules* 48 (2011) 38–43.
21. Habeeb F, Shakir E, Bradbury F. Screening methods used to determine the anti-microbial properties of Aloe vera inner gel. *Methods*. 2007;42:315–320.
22. Lawless J, Allan J. Aloe vera: Natural Wonder Cure. Thorsons Publishing Ltd; London: 2000. The clinical composition of Aloe vera; pp. 161–171.
23. Pandey R, Mishra A. Antibacterial activities of crude extract of Aloe barbadensis to clinically isolated bacterial pathogens. *Appl Biochem Biotechnol*. 2010;160:1356–1361.
24. Das S, Mishra B, Gill K. Isolation and characterization of novel protein with anti-fungal and anti-inflammatory properties from Aloe vera leaf gel. *Int J Biol Macromol*. 2011;48:38–43.
25. Shelton RM, *International Journal of Dermatology* 30 (1991) 679–683.
26. Hughey VL, Johnson EA. Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. *Appl. Environ. Microbiol*. 1987; 53:2165- 2170.
27. *Handbook of Sustainable Polymers– Structure and Chemistry*; 2016. Edited by Thakur VK, Thakur MK. CRC Press Taylor and Francis Group; pp 586.
28. Baron F, Réhault S, Compounds with antibacterial activity. 2007; In: *Bioactive Egg Compounds* (eds. Huophalathi R, Lopez-Fandiño R, Anton M, Schade R). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 191-198.
29. Boland JS, Davidson PM, Weiss J, Enhanced inhibition of *Escherichia coli* O 157:H7 by lysozyme and chelators. *J. Food Prot.*, 2003, 66, 1783-1789.
30. Ibrahim HR, Yamada M, Matsushita K, Kobayashi K, Kato A, Enhanced bactericidal action of lysozyme to *Escherichia coli* by inserting a hydrophobic pentapeptide into C Terminus. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 5059-5063.
31. Lodinová R, Jouja V, Wagner V. Serum Immunoglobulins and

Coproantibody Formation in Infants after Artificial Intestinal Colonization with *Escherichia coli* 083 and Oral Lysozyme Administration. *Pediatr. Res.* 7, 659–669.

32. Verhamme I. Klinisch en farmaceutisch belang van lysozyme. *Farm. Tijdschr. Belg.* 1985; 62: 339-346.

33. Verhamme I, Raccelli L, Lauwers A. Lysozyme (N-acetylmuramyl- β (1 $\rightarrow$ 4)glycanohydrolase EC 3.21.17). *Int. Pharm. J.* 1988; 2: 129-132.

34. O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoS One.* 2013 Nov 6;8(11):e80074.

35. Ratna SM, Yelikar KA, Deshpande S. Study of *Bacillus coagulans* Unique IS-2 (ATCC PTA-11748) in the Treatment of Patients with Bacterial Vaginosis. *Indian J Microbiol.* 2012 Sep;52(3): 396-9.

36. Petricevic L, Witt A. The role of *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35 in restoring the normal vaginal flora after antibiotic treatment of bacterial vaginosis. *BJOG.* 2008 Oct;115(11):1369-74.

37. Ehrström S, Daroczy K, Rylander E, Samuelsson C, Johannesson U, Anzén B, Pålson C. Lactic acid bacteria colonization and clinical outcome after probiotic supplementation in conventionally treated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *Microbes Infect.* 2010 Sep;12(10):691-9.

38. Menard JP. Antibacterial treatment of bacterial vaginosis: current and emerging therapies. *Int J Womens Health.* 2011;3:295-305.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Farmacinė kompozicija, apimanti 20 mg išgryninto vandens, 20 mg lizocimo hidrochlorido, 50 mg alijošiaus ekstrakto, 10 mg morkų ekstrakto, 10 mg šaltalankio ekstrakto, 70 mg (min $1,5 \times 10^9$ ovulėje) probiotikų lizato, 400 mg emulsiklio (cukrozės stearato), 1188 mg baltų bekvapių kietųjų riebalų ir augalinių priemaišų.

2. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad papildomai apima priešūždegiminį, epitelį regeneruojantį, bakteriocidinį / bakteriostatinį poveikį turinčius komponentus.

3. Farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji turi ne mažiau kaip vieną baktericidinį komponentą, kurio koncentracija yra nuo 0,0001 % iki 3 % (svorio / tūrio) kompozicijos masės.

4. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji turi probiotikų, kurių koncentracija yra nuo 0,5 % iki 20 % (svorio / tūrio) kompozicijos masės.

5. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji turi aliejų, turinčių medžiagų, kurie padengia epitelį ir suformuoja barjerą nuo mechaninių ar biologinių pažeidimų.

6. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji turi natūralių priešūždegiminį poveikį turinčių ekstraktų, kurių koncentracija yra nuo 0,0001 % iki 10 % (svorio / tūrio) kompozicijos masės.

7. Farmacinė kompozicija pagal bet kurį iš ankstesnių punktų, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji pasižymi priešūždegiminiu, priešgrybeliniu, prebiotiniu poveikiu ir yra paruošiama vaginalinių ovulių formos.

8. Farmacinės kompozicijos pagal bet kurį iš ankstesnių punktų panaudojimas gamybai vaisto, skirto įvairios etiologijos vaginito ir vulvovaginito bei jų sukeltų simptomų bei makšties disbakteriozės bei jos sukeltų simptomų profilaktikai ir (arba) gydymui.

9. Farmacinė kompozicija pagal bet kurį iš 1-6 punktų, skirta panaudoti įvairios etiologijos vaginito ir vulvovaginito bei jų sukeltų simptomų bei makšties disbakteriozės bei jos sukeltų simptomų profilaktikai ir (arba) gydymui.