

Вибір супозиторної основи у складі вагінальних супозиторіїв для лікування бактеріального вагінозу на підставі мікробіологічних досліджень

Криклива І. О., Калюжная О. С.

Кафедра заводської технології ліків

Національний фармацевтичний університет

м. Харків. Україна

irinakrikлива@ukr.net

Бактеріальний вагіноз (БВ) - стан вагінальної мікрофлори, який характеризуються значним зниженням концентрації лактобактерій і збільшенням кількості патогенних мікроорганізмів. Згідно статистичним даним останніх років, БВ виявляють у 55,8% жінок, що звертаються до гінекологів [2]. Дане захворювання не має специфічної картини запалення, інколи протікає безсимптомно, що ускладнює діагностику та сприяє виникненню ускладнень. Важливим фактором, що захищає жінок від вагінальних інфекцій є сукупність корисних мікроорганізмів, що населяють піхву. Нормальна мікрофлора бере участь у процесах обміну речовин і вітамінного балансу, забезпечує клітинний бар'єр та резистентність до патогенних мікроорганізмів, стимулює імунітет [4, 6].

Лікування БВ проводиться у 2 етапи: 1) ліквідувати патогенну мікрофлору піхви (що досягається прийомом антибактеріальних препаратів); 2) відновити лактофлору (пробіотики). На практиці більшість пацієток після завершення першого етапу лікування і зникнення неприємних симптомів БВ нехтують другим етапом, який є не менш важливим для досягнення максимального ефекту терапії. Причини такої ситуації: недостатня інформованість населення, високі ціни на пробіотики та їх нестача. Саме тому проблема дисбактеріозу набуває більшої актуальності, а розробка ефективних засобів відновлення мікробіоценозу - один з шляхів підвищення ефективності специфічного лікування.

Проаналізувавши літературу, було з'ясовано, що лікування бактеріального вагінозу не обмежується лише застосуванням антибактеріальних та антисептичних препаратів. Розробка пробіотиків у формі вагінальних супозиторіїв є актуальним завданням на сьогоднішній день за наступними причинами: супозиторії мають багато переваг порівняно з іншими ЛФ, терапевтичний ефект препаратів, що містять лактобактерії та біфідобактерії, пов'язаний зі зниженням рН вагінального середовища, відновленням бар'єрної функції вагінальної стінки, антагоністичною активністю відносно патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, продукцією бактеріоцинів і біосурфактантів, що перешкоджають адгезії патогенних мікроорганізмів [3]. Пероральні пробіотики піддаються бактерицидній дії соляної кислоти, жовчі та інших ферментів шлунково-кишкового тракту і можуть не досягати навіть кишківника, що робить неможливим міграцію бактерій до піхви. Тому метою роботи було

створення вагінальних супозиторіїв на основі ліофілізованих бактерій. Ці форми бактерій мають тривалі терміни придатності (до 1 року) та стійкі до нетривалих змін температури зберігання [6]; на ринку України серед вагінальних форм переважають вагінальні капсули, а супозиторії представлені лише 2 виробниками, але і ті засоби є БАДами; у зв'язку з тим, що *G. vaginalis* має знижену адаптивну здатність по відношенню до кислотності середовища, необхідним компонентом терапії БВ має бути підвищення місцевого імунітету, що можна досягти використовуючи аскорбінову кислоту [5].

Тому саме розробка пробіотиків для вагінального застосування з лактобактеріями, біфідобактеріями та аскорбіною кислотою стала метою наших досліджень, а підбір складу діючих та допоміжних речовин пробіотиків - одним з найважливіших завдань роботи.

Об'єктами дослідження стали ліофілізовані штами біфідобактерій *Bifidobacterium bifidum*, ліофілізовані штами лактобактерій *Lactobacillus fermentum* або *Lactobacillus plantarum* та аскорбінова кислота як діючі речовини. Як супозиторні основи були використані - твердий жир, супоцир NA-15, вітепсол Н-15, естаринум В02 (*massa estarinum*) і емульгатор твін -80. Як метод дослідження нами був застосований метод серійних розведень із наступним висіванням на густе живильне середовище та підрахунком клітин методом Коха, який використовували для визначення кількості живих клітин лакто- та біфідобактерій у супозиторіях різного складу.

Результати та їх обговорення. Одним з найважливіших етапів нашого дослідження є вибір супозиторної основи для розробки вагінальних пробіотиків. Так як супозиторна основа повинна бути індиферентною, забезпечувати зручність застосування та високу біодоступність, ефективність дії та показники якості досліджених вагінальних пробіотиків безпосередньо залежать від правильно підбраного носія. Саме тому важливим етапом досліджень щодо розробки складу вагінальних супозиторіїв з лакто- та біфідобактеріями став вибір типу основи. Гідрофільні основи, зокрема ПЕО-основи, не досліджували враховуючи те, що вони володіють гіперосмоляльною дією: при контакті основи із живими мікробними клітинами пробіотичних культур осмотичний тиск вирівнюється за рахунок абсорбції води із біоб'єкта, що призводить до його зневоднення та супроводжується осмотичним шоком клітин; притягуючи вологу зі слизових оболонок, вони викликають зневоднення, що призводить до виникнення неприємних відчуттів у піхві; мають малу в'язкість і здатні витікати з порожнини. Ці характеристики основ у нашому випадку обмежують їх застосування.

Для досліджень було приготовано 4 зразка супозиторій методом виливання на ліпофільних основах, які найчастіше використовуються у фармацевтичній промисловості та

мають відповідні фармакотехнологічні властивості, а саме: твердий жир, супоцир NA-15, вітепсол Н-15 та естаринум В02, що наведені в таблиці 1.

Таблиця 1.

Склад зразків супозиторіїв

№ зразку	Склад
1	Пробіотична маса - 0,07г, 10% р-н аскорбінової кислоти - 1мл, твін-80 - 0,5г, твердий жир – до 3,0г
2	Пробіотична маса - 0,07г, 10% р-н аскорбінової кислоти - 1мл, твін-80 - 0,5г, вітепсол – до 3,0г
3	Пробіотична маса - 0,07г, 10% р-н аскорбінової кислоти - 1мл, твін-80 - 0,5г, супоцир – до 3,0г
4	Пробіотична маса - 0,07г, 10% р-н аскорбінової кислоти - 1мл, твін-80 - 0,5г, естаринум – до 3,0г

За даними літератури достатня для виявлення терапевтичного ефекту загальна кількість клітин пробіотичної культури у препараті дорівнює $1 \cdot 10^7$ КУО, саме на цю концентрацію ми орієнтувались при визначенні найкращої основи. Тобто та основа, яка буде забезпечувати найбільше виживання клітин пробіотичних культур, буде рекомендована нами для створення лікарської форми. Біофармацевтичні дослідження були проведені на кафедрі біотехнології НФаУ під керівництвом Калужної О.С.

Таблиця 2.

Результати підрахунку кількості клітин у супозиторіях на різних основах

Зразок / Назва основи	Зовнішній вигляд	Загальна кількість клітин пробіотичних культур, КУО/мл (на початку)	Загальна кількість клітин пробіотичних культур, КУО/мл (через 3 місяці зберігання)
№ 1/Твердий жир	Рівномірно забарвлені, майже білі, гладенькі, без тріщин і сколів супозиторії	$(2,5 \pm 0,1) \cdot 10^{14}$	$(1,9 \pm 0,4) \cdot 10^{12}$
№ 2/Вітепсол	Нерівномірно забарвлені, жовтуватого кольору, без тріщин і сколів, жирні та в'язкі на дотик	$(9,5 \pm 0,3) \cdot 10^{14}$	$(2,7 \pm 0,1) \cdot 10^9$
№ 3/Супоцир	Рівномірно забарвлені, білого кольору, гладенькі, без сколів та тріщин	$(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^{14}$	$(2,1 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$
№4/Естаринум	Нерівномірно забарвлені, жовтуватого кольору, хрупкі, неоднорідні, наявні сколи, із повітряним стрижнем	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^{12}$	$(2,5 \pm 0,3) \cdot 10^9$

Примітки: n = 5; P = 95 %; (M±m) – довірчий інтервал.

Через 48 год інкубування у термостаті в чашках Петрі підраховували колонії, що вирости, та розраховували кількість клітин у 1 мл [1].

Провівши підрахунки та врахувавши всі 5 повторів, які ми робили, отримані дані, що зведені у таблиці 2

За результатами досліджень бачимо, що на початку експерименту загальна кількість мікроорганізмів в одному супозиторії відповідає нормі (суттєво перевищує), але для супозиторіїв на основі естаринуму є меншою, ніж для інших зразків. Через 3 місяці зберігання кількість мікроорганізмів суттєво зменшується для всіх зразків, але для зразків на основі твердого жиру ці зміни мінімальні, що свідчить про перспективність використання саме цієї основи. Також враховуючи позитивні фізико-хімічні властивості супозиторіїв на твердому жирі можна рекомендувати саме цю основу.

Висновки. На основі проведених досліджень отриманих супозиторіїв методом серійних розведень із послідуочим висіванням на густе живильне середовище та підрахунком клітин методом Коха обрано оптимальну супозиторну основу для вагінального засобу – твердий жир.

Література.

1. Калюжная О. С., Стрельников Л. С., Стрелец О. П. Мікробіологічне обґрунтування створення пробіотичного препарату для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів. *Фармаком.* 2009. № 1. С. 55–60.
2. Кира Е. Ф. Бактериальный вагиноз. М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2012. 472 с.
3. Нагорная В. Ф. Рациональный выбор пробиотиков для комплексной терапии вагинальных инфекций. *Здоровье женщины.* 2010. № 9 (55). С. 3–7.
4. Осипенко Е. Д. Микробиоценоз влагалищного канала в норме и патологии и его пробиотическая коррекция. *Здоровье женщины.* 2012. № 10 (76). С. 52–55.
5. Lamont R. F., NhanChang C. L., Sobel J. D. Treatment of abnormal vaginal flora in early pregnancy with clindamycin for the prevention of spontaneous preterm birth: a systematic review and metaanalysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2011. Vol. 205. P. 177.
6. Zhou X., Brotman R., Gajer P., Abdo Z. Recent Advances in Understanding the Microbiology of the Female Reproductive Tract and the Causes of Premature Birth. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2010. Vol. 5. P. 11-13.