

一种阴道用组合物与该组合物的用途

技术领域

本发明涉及异麦芽酮糖在制备阴道用组合物中的用途；本发明还涉及一种用于阴道的组合物，所述组合物可为健康产品、保健品、清洁品、护理品、除异味剂、化妆品、消毒剂组合物、或药物组合物；本发明还特别涉及一种非治疗性阴道保健护理的方法，和一种非治疗性阴道清洁卫生的方法，和一种增强阴道酸度的方法，和一种促进阴道内保护性乳杆菌生长的方法，以及一种预防和治疗阴道菌群失调、特别是细菌性阴道病的方法。

背景技术

女性阴道是一个开放系统，易受各种微生物和病原体的侵袭。健康状态下，阴道黏膜表面栖居着有益的乳杆菌。乳杆菌能代谢阴道黏膜上皮细胞中的糖原产酸，使阴道酸度保持在 pH 值 3.5 ~ 4.5 的范围，从而使阴道具有自净作用，是阴道抗感染力的重要组成部分。阴道的酸度一旦减弱，就会影响到阴道、乃至整个生殖道的卫生和健康，给女性生活带来危害。

阴道内的乳杆菌种类较多，可检测到近二十来种^[1]，在 2000 年以前认为主要是嗜酸性乳杆菌。2000 年以后随着分子鉴定技术的成熟和广泛运用，对阴道内乳杆菌种类的研究取得了突破性进展。2004 年 Zhou、2010 年 Linhares、以及 2012 年 Rampersaud R 等报告^{[2][3][4]}阴道内的乳杆菌常以卷曲乳杆菌（*L. crispatus*）为优势乳杆菌，或以惰性乳杆菌（*L. iners*）、格氏乳杆菌（*L. gasseri*）为优势乳杆菌，或以詹氏乳杆菌（*L. jensenii*）为优势乳杆菌，还可能以沙门氏乳杆菌（*L. gallinarum*）与阴道乳杆菌（*L. vaginalis*）为优势乳杆菌。他们还报告乳杆菌不是所有“健康”女性阴道内的优势菌，一些女性以小阿托波氏菌（*Atopobium*）为优势菌，该菌也可产乳酸，可维持阴道的弱酸性环境。

除了乳杆菌外，健康女性阴道内还栖居着很多其它种类的细菌。2005 年 Fredricks 等报告^[5]自健康女性阴道内检测出以下细菌：大肠杆菌（*Escherichia coli*），消化链球菌（*Peptostreptococcus*），微单胞菌属（*Finegoldia*），普雷沃

氏菌 (*Prevotella*)，厌氧球菌属 (*Anaerococcus*)，布氏乳杆菌 (*Lactobacillus reuteri*)，链球菌 (*Streptococcus*)，亚利氏菌 (*Allisonella*)，毛螺旋菌 (*Lachnospiraceae*)，假丁酸弧菌属 (*Moryella*)，气球菌 (*Aerococcus*)，加德纳菌属 (*Gardnerella*)，动弯杆菌 (*Mobiluncus*)，纤毛菌属 (*Sneathia*)，消化链球菌 (*Peptoniphilus*)，等等。

尤其当阴道酸度减弱时，有益的乳杆菌减少，种类复杂的厌氧菌以及需氧/兼性需氧的葡萄球菌、大肠杆菌等生长增多，可引起一系列不良后果，危害女性健康和生活质量，严重时可导致疾病如细菌性阴道病 (*Bacterial vaginosis*, BV)。

月经、性交、阴道冲洗等对阴道酸度有较大影响。如月经后第一周时阴道酸度减弱，阴道 pH 值远高于 4.5 达 6.6^[6]，以及精液减弱阴道酸度^[7]等等，因而月经后、同房后阴道的冲洗，成为女性个人卫生、审美、和高品质生活质量的需要，以及预防感染的需要，美国女性约 30% 经常做阴道冲洗。然而不恰当的冲洗破坏阴道酸度和菌群，反而增加感染机会^[8]。

如 BV 病人的阴道酸度减弱，阴道 pH 值升高至 4.5 以上，阴道中的乳杆菌减少，各种厌氧菌等杂菌大量生长。2005 年 Fredricks 等报告^[5]利用 16S-rDNA 技术对 BV 患者的阴道菌群分析后，发现每例患者平均分离出 9-17 种厌氧菌，其中包括巨型球菌属 (*Megasphaera*) 与纤毛菌属 (*Sneathia*)。2009 年 Livengood^[9]等报告，几乎所有的 BV 患者阴道分泌物中均可分离/检测到阴道加德纳菌 (*Gardnerella vaginalis*)，可在近 95% 的 BV 患者阴道分泌物中分离/检测到阿托波菌群 (*Atopobium vaginae*)，可自 50% 的 BV 患者阴道分泌物中分离/检测到动弯杆菌属 (*Mobiluncus* spp)。许多其他厌氧菌，如普雷沃菌属、厌氧型的链球菌等等，也是重要的 BV 菌。

BV 的治愈标准包含阴道的酸度恢复正常，亦即阴道的 pH 值恢复至 3.5~4.5。国际上治疗 BV 首选对厌氧菌作用强的抗菌药物甲硝唑，其次为克林霉素等抗菌药物，但两种药物的治愈率仅约 60%，复发率则高达 30~40%，且治愈率逐渐降低。2007 年 Livengood CH 等报告^[10]，按照 1998 年 FDA 发布的指南，若同时满足临床治愈与微生物治愈的标准，则替硝唑治疗 BV 的治愈率仅为 37%。按照传统的 Amsel 临床指标 4 项中 3 项正常即为治愈，则治愈率为 57%。Thomas KK 等更于 2005 年报告^[11]0.75% 甲硝唑凝胶对 BV 的治愈率仅为 26%。

鉴于女性阴道的开放性、脆弱性、易感性，以及传统的阴道冲洗、以及抗菌药物、抗菌产品，难以满足女性阴道日常卫生、护理、保健的需要，尤其难以满足月经后、同房后、绝经后、以及阴道感染等特殊生理、病理情况时阴道卫生、护理、保健的需要，因而研究开发有效的阴道用健康产品、保健品、卫生用品、药品等，成为维护女性健康、保障女性高品质生活质量的迫切需求。

发明内容

本发明的目的是提供阴道用组合物，以及使用该组合物非治疗性地对阴道进行日常保健、或日常养护、或日常湿润、或日常润滑、或日常清洁，用于增加阴道外阴的舒适感、或清新感；特别是非治疗性地用于月经后、或同房后、或绝经后、或阴道冲洗后、或阴道用药治疗后、或阴道感染后对阴道进行保健、或养护、或润滑、或湿润、或清洁，用于增强阴道的自净作用、或增强阴道对病原菌的抵抗力；还可用于增强阴道酸度、或维护阴道酸度在 3.5~4.5 的范围内，或促进阴道内的保护性乳杆菌生长、特别是促进保护性的卷曲乳杆菌（*L. crispatus*）、或詹氏乳杆菌（*L. jensenii*）、或格氏乳杆菌（*L. gasseri*）的生长；还特别用于消除或减轻阴道分泌物异味、或消除或减轻阴道外阴瘙痒、或消除或减轻阴道外阴干涩、或消除或减轻阴道外阴疼痛、性交痛等不适感，或改善白带性状；以及用于调节阴道菌群、或用于抗菌治疗后恢复阴道有益菌群、或用于预防或治疗阴道菌群失调、或用于预防或治疗细菌性阴道病。

研究显示卷曲乳杆菌、詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌和惰性乳杆菌这四种最常见乳杆菌在维护阴道菌群的正常生理和稳定方面，具有不同作用。2012 年 Ma^[12]等报告了关于阴道菌群稳定性方面的研究结果，相比以其它三种乳杆菌为优势菌的阴道菌群，以惰性乳杆菌为优势菌的阴道菌群不稳定、易变化。这可能与惰性乳杆菌产 H₂O₂ 的能力弱有关，Antonio 等^[13]发现，分离自女性阴道的乳杆菌中，仅 9% 的惰性乳杆菌菌株能产 H₂O₂，而 95% 的卷曲乳杆菌菌株、94% 的詹氏乳杆菌菌株、和 71% 的格氏乳杆菌菌株产 H₂O₂。可见，只有当卷曲乳杆菌、或詹氏乳杆菌、或格氏乳杆菌恢复成为了阴道内的优势菌时，才最有利于阴道菌群保持正常和稳定，因而这三种乳杆菌又被称为阴道的“保护性乳杆菌”。

鉴于女性阴道的开放性、脆弱性、易感性，以及传统阴道冲洗、抗菌药物、抗菌产品等难以满足女性对月经后、同房后、绝经后、以及阴道感染等等特

殊生理或病理情况时阴道清洁卫生、养护、保健的需要，为此本发明人进行了大量研究、试验，发现异麦芽酮糖具有很强的增强阴道酸度的作用，且同时对卷曲乳杆菌、詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌这三种保护性乳杆菌的生长亦具有较强的促进作用，因而，异麦芽酮糖能显著增强阴道的自净作用和抗感染力，特别适合用于制备阴道用非治疗性的健康产品、或日用品、或保健用品、或化妆品、或卫生用品、或清洁品、或护理品，或用于制备阴道用治疗性的健康产品、或药品、或医疗器械。在此基础上，通过进一步研究完成了本发明。

本发明提供一种异麦芽酮糖在制备阴道用组合物中的用途，其中在所述制备中，异麦芽酮糖的用量为使组合物中含有 0.05~20% (w/w) 的异麦芽酮糖，优选的用量为使组合物中含有 1.5~12% (w/w) 的异麦芽酮糖。

根据本发明的制备用途，其中所述组合物还含有总量为 0.05~2.5% (w/w) 选自下组的防腐剂和/或抗菌剂：苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、山梨酸钠、乙酸、乙酸钠、双乙酸、双乙酸钠、脱氢乙酸、脱氢乙酸钠、丙酸、丙酸钠、丙酸钙、辛酸、辛酸钠、癸酸、癸酸钠、十一烯酸、十一烯酸钠、月桂酸、月桂酸钠、纳他霉素、乳铁蛋白、乳铁蛋白肽中的一种或其组合。

其中所述防腐剂和/或抗菌剂对病菌、霉菌、及假丝酵母菌等的抑制作用相对较强，而对乳杆菌的抑制作用相对较弱，用于制备本发明的阴道用组合物既可迟滞病菌、霉菌、及假丝酵母菌等的生长，又可避免显著干扰、减弱异麦芽酮糖对乳杆菌生长和产酸的促进作用。

根据本发明的制备用途，其中在所述制备中还使用非活性的辅料/基质成分用于制备组合物。制备工艺、方法和辅料的选择，均为本领域专业技术人员根据本发明的公开内容并结合其专业技能和背景知识可以想见的。

根据本发明的制备用途，其中所述用途为将异麦芽酮糖用于制备包括但不限于下列的阴道用组合物产品或组合物制剂：非治疗性的阴道用健康产品、或阴道用日用品、或阴道保健用品、或阴道护理用品、或阴道用化妆品、或阴道用卫生用品、或阴道用清洁用品，或治疗性的阴道用健康产品、或阴道用医疗器械、或阴道用药品（非处方药或处方药），或为用于阴道的清洁剂、或养护剂、或除异味剂、或止痒剂、或清新剂、或润湿剂、或润滑剂、或消毒剂、或抗菌剂、或表面杀微生物剂、或微生态调节剂、或微生物调节剂。

根据本发明的制备用途，其中所述用途为将异麦芽酮糖用于制备包括但不限于下列的阴道用组合物的剂型：水溶性胶体剂、水溶液剂、气雾剂、霜剂、软膏剂、胶囊剂、微囊剂、栓剂、泡腾剂、片剂，优选水溶性胶体剂、霜剂。

例如，在制备阴道用水溶性胶体组合物时，可按本领域技术人员已知的方法例如下述工艺流程制备：按定量取异麦芽酮糖，苯甲酸钠、丙酸钠、脱氢乙酸钠、水溶性胶体基质（例如黄原胶），混匀，定量加蒸馏水，搅拌使糖和防腐剂等溶解，水溶性胶体基质溶胀呈均匀粘性胶体。用可药用的酸和/或碱调组合物 pH 值至 3.5 ~ 6.0 的范围、特别是 4.0 ~ 5.5 的范围。分装后灭菌，或灭菌后再无菌分装。灭菌可选择如下工艺：辐射灭菌，或采用 110 ~ 115°C、15 ~ 20 分钟高温灭菌，或采用间歇灭菌，或将防腐剂、糖组分等单独配制成溶液后滤过除菌，再添加到经灭菌的水溶性胶状基质中。

如制备阴道片时，可按本领域技术人员已知的方法，将定量的异麦芽酮糖，与苯甲酸钠、丙酸钠、脱氢乙酸钠混合均匀后直接压片，即得片剂；亦可加入辅料成分，如硬脂酸镁等润滑剂或羧甲基淀粉钠等崩解剂，混合均匀，压片。

制备阴道栓剂时，可按本领域技术人员已知的方法例如下述工艺流程制备：定量取异麦芽酮糖，苯甲酸钠、丙酸钠、脱氢乙酸钠、吐温 80，混合研匀，加热至 50°C 左右，另将混合脂肪酸甘油酯（亦称固体脂肪 Solid Fat）加热至 60°C 熔化，然后将糖、防腐剂与吐温 80 的混合液加入熔化的基质中，边加入、边搅拌，待混匀后，于 40°C 左右（即凝固前）倾入模具中，稍冷后刮模，冷却，脱模，即得阴道栓。栓剂的基质除了混合脂肪酸甘油酯，亦可选用硬脂酸丙二醇酯、甘油明胶、吐温-61 等。大量生产可采用自动化、机械化装置。

根据本发明的制备用途，其中所述制备还可选择性地进一步使用有效量的一种或多种抗菌剂和/或防腐剂用于制备组合物，包括但不限于：过氧化氢、维生素 B₁、维生素 K₃、维生素 K₄、对羟基苯甲酸酯类、防御素、抗菌肽。上述物质可进一步抑制组合物中的细菌、霉菌、假丝酵母菌等，进一步增强组合物的微生物稳定性。

根据本发明的制备用途，其中所述制备还可选择性地使用总含量为 0.001~1.0% (w/w) 的雌激素类物质和/或植物雌激素 (Phytoestrogen) 类物质用于制备组合物，其中所述雌激素或植物雌激素包括：己烯雌酚、雌二醇、雌三醇、大豆甙 (Daidzin)、大豆甙元 (Daidzein)、染料木甙 (Genistin)、染料木素 (Genistein)、黄豆黄素 (Glycitin)、黄豆黄素甙元 (Glycitein)、鸡豆黄素 (Biochanin A)、香豆雌酚 (Coumestrol)、芒柄花黄素 (Formononetin) 等。雌激素类物质、植物雌激素类物质可促进阴道黏膜血管新生、阴道黏膜上皮角化和阴道上皮损伤愈合，可增强本发明制备的组合物功效。上述各种雌激素类物质、植物雌激素类物质在本发明制备用途中的选择和使用方法，在本领域专业技术人员的知识范围以内。

根据本发明的制备用途，其中所述制备还可选择性地使用一种或多种选自下组的阴道黏膜细胞保护物质和/或抗氧化物质用于制备组合物，包括但不限于：0.1~5.0% (w/w) 芦荟提取物、0.1~5.0% (w/w) 薰衣草提取物、0.001~1.0% (w/w) 维生素 E、0.001~1.0% (w/w) 维生素 A、0.001~1.0% (w/w) 维生素 D、0.001~1.0% (w/w) 维生素 C，用于进一步营养、湿润、润滑、保护阴道黏膜上皮细胞。

根据本发明的制备用途，其中所述制备还可选择性地使用有效量的一种或多种选自下组的糖类物质用于制备组合物，包括但不限于：葡萄糖、果糖、甘露糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽糖、乳糖、乳果糖、海藻糖、纤维二糖、蜜二糖、龙胆二糖、松二糖、壳二糖、棉子糖、龙胆糖、潘糖、松三糖、异麦芽三糖、蔗果三糖、异麦芽四糖、蔗果四糖、蔗果五糖、麦芽寡糖、低聚半乳糖、甘露低聚糖、葡聚糖、环糊精、糊精、淀粉和糖原。

根据本发明的制备用途，还可选择性地使用一种或多种对细菌和/或真菌有效的抗菌药物于所述的制备用途，包括但不限于下列物质：氟康唑、曲康唑、布康唑、咪康唑、克霉唑、制霉菌素、甲硝唑、替硝唑、林可霉素、阿莫西林；其中优选所述抑菌剂和/或杀菌剂为甲硝唑、替硝唑、克霉唑、氟康唑。上述各种抑菌剂和/或杀菌剂在本发明制备用途中的选择和使用方法，在本领域普通专业人员的知识范围以内。

根据本发明的制备用途，其中制备水溶性胶体剂时，异麦芽酮糖的含量应为 0.1 ~ 20.0% (w/v)，优选的总含量为 3.0 ~ 12.0% (w/v)。

根据本发明的制备用途，其中制备水溶性胶体剂时，还需选用非流动性、粘性、水溶性胶体基质，该基质使糖与阴道粘膜均匀接触并停留较长时间，从而发挥促进乳杆菌生长的作用。该水溶性粘性胶体基质的选择和使用方法，在本领域专业技术人员的知识范围之内，根据本发明的制备用途，该基质包括但不限于黄原胶、卡波姆。

根据本发明的制备用途，其中制备水溶性胶体剂时，应将其 pH 值调至 3.5 ~ 6.0 的范围，特别是 4.0 ~ 5.5 的范围。调节本发明中所述水溶性胶体剂 pH 值的酸或碱的种类和浓度的选择，在本领域普通技术人员的知识范围以内。

根据本发明制备用途制备的水溶性胶体剂，可采用无菌、密封包装，优选单次剂量的无菌、密封包装。可采用本领域技术人员熟悉的无菌工艺技术，将经过灭菌或无菌化处理的组合物分装、密封于无菌包装中，或将制备好的组合物分装、密封好后进行灭菌处理，或将制备好的组合物分装于一次性阴道给药器中，用外包装袋密封后进行辐射灭菌，等等。

根据本发明优选的实施方案，还可选择性地使用乳杆菌活菌体用于制备同时含异麦芽酮糖和乳杆菌活菌体的胶囊剂、微囊剂、片剂等，其中的乳杆菌活菌体用于直接补充患者阴道缺少的乳杆菌、或用于替代患者阴道内原有的乳杆菌，异麦芽酮糖用于促进该乳杆菌在阴道内生长。根据本发明制备用途的含异麦芽酮糖和乳杆菌活菌的组合物，适合用于调节阴道菌群、增强阴道酸度、清洁护理阴道、预防或治疗阴道乳杆菌稀少、阴道酸度减弱、细菌性阴道病和阴道菌群失调。乳杆菌活菌体的制备和在本发明的制备用途中的使用方法，在本领域普通专业人员的知识范围以内。

本发明还特别提供一种用于阴道的组合物，其特征在于：（1）含有 0.05~20%（w/w）异麦芽酮糖；（2）含有总量为 0.05~2.5%（w/w）的选自下组的防腐剂和/或抗菌剂：苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、山梨酸钠、乙酸、乙酸钠、双乙酸、双乙酸钠、脱氢乙酸、脱氢乙酸钠、丙酸、丙酸钠、丙酸钙、辛酸、辛酸钠、癸酸、癸酸钠、十一烯酸、十一烯酸钠、月桂酸、月桂酸钠、纳他霉素、乳铁蛋白、乳铁蛋白肽中的一种或其组合；（3）含有一种或多种适用于人体阴道的非活性辅料成分。

根据本发明的组合物，其中在所述组合物中异麦芽酮糖的含量优选为1.5~12% (w/w)。

根据本发明的组合物，其中所述组合物包括但不限于下列的阴道用组合物产品或组合物制剂：非治疗性的阴道用健康产品、阴道用日用品、或阴道保健用品、或阴道护理用品、或阴道用化妆品、或阴道用卫生用品、或阴道用清洁用品，或治疗性的阴道用健康产品、或阴道用医疗器械、或阴道用药品（非处方药或处方药），或为用于阴道的清洁剂、或养护剂、或除异味剂、或止痒剂、或清新剂、或润湿剂、或润滑剂、或消毒剂、或抗菌剂、或表面杀微生物剂、或微生态调节剂、或微生物调节剂。

阴道用组合物的剂型为包括但不限于下列的剂型：水溶性胶体剂、水溶液剂、气雾剂、霜剂、软膏剂、胶囊剂、微囊剂、栓剂、泡腾剂、片剂，优选水溶性胶体剂、霜剂。

根据本发明的组合物，其中所述组合物还可选择性地进一步含有有效量的选自下组的防腐剂 and/或抗菌剂，所述防腐剂或抗菌剂包括：过氧化氢、维生素 B₁、维生素 K₃、维生素 K₄、对羟基苯甲酸酯类、防御素、抗菌肽。上述物质可进一步抑制组合物中的细菌、霉菌、假丝酵母菌等，进一步增强组合物的微生物稳定性。

根据本发明的组合物，其中所述组合物还可选择性地含有总量为0.001~1.0% (w/w) 的雌激素类物质和/或植物雌激素类物质，包括但不限于：己烯雌酚、雌二醇、雌三醇、大豆甙 (Daidzin)、大豆甙元 (Daidzein)、染料木甙 (Genistin)、染料木素 (Genistein)、黄豆黄素 (Glycitin)、黄豆黄素甙元 (Glycitein)、鸡豆黄素 (Biochanin A)、香豆雌酚 (Coumestrol)、芒柄花黄素 (Formnonetin)。雌激素类物质、植物雌激素类物质可促进阴道黏膜血管新生、阴道黏膜上皮角化和阴道上皮损伤愈合，因而可进一步增强本发明的组合物的作用。上述各种雌激素类物质、植物雌激素类物质在本发明组合物中的选择和使用方法，在公开的技术和本领域专业人员的知识范围以内。

根据本发明的组合物，其中所述组合物还可选择性地含有有效量的选自下组的阴道黏膜细胞保护物质和/或抗氧化物质，包括但不限于：0.1~5.0% (w/w) 芦荟提取物、0.1~5.0% (w/w) 薰衣草提取物、0.001~1.0% (w/w) 维生素 E、0.001~1.0% (w/w) 维生素 A、0.001~1.0% (w/w) 维生素 D、0.001~1.0%

(w/w) 维生素 C，用于进一步营养、湿润、润滑、和保护阴道黏膜上皮细胞。上述各种物质在本发明组合物中的选择和使用方法，在公开的技术和本领域专业人员的知识范围以内。

根据本发明的组合物，其中所述组合物还可选择性地含有有效量的一种或多种选自下组的糖类物质，包括但不限于：葡萄糖、果糖、甘露糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽糖、乳糖、乳果糖、海藻糖、纤维二糖、蜜二糖、龙胆二糖、松二糖、壳二糖、棉子糖、龙胆糖、潘糖、松三糖、异麦芽三糖、蔗果三糖、异麦芽四糖、蔗果四糖、蔗果五糖、麦芽寡糖、低聚半乳糖、甘露低聚糖、葡聚糖、环糊精、糊精、淀粉和糖原。上述糖类物质在本发明组合物中的选择和使用方法，在公开的技术和本领域专业人员的知识范围以内。

根据本发明的组合物，其中所述组合物还可选择性地含有有效量的一种或多种选自下组的抗菌药物，包括但不限于氟康唑、曲康唑、布康唑、咪康唑、克霉唑、制霉菌素、甲硝唑、替硝唑、林可霉素、阿莫西林，优选为甲硝唑、替硝唑、氟康唑、克霉唑。

根据本发明的组合物，其中所述组合物还可选择性地含有乳杆菌活菌，其中所述乳杆菌活菌包括但不限于：卷曲乳杆菌、詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌。乳杆菌活菌体用于直接补充患者阴道缺少的乳杆菌、或用于替代患者阴道内原有的乳杆菌，异麦芽酮糖用于促进该乳杆菌在阴道内生长。因而根据本发明的含异麦芽酮糖和乳杆菌活菌的组合物适合用于调节阴道菌群、增强阴道酸度、清洁护理阴道、预防或治疗阴道乳杆菌稀少、阴道酸度减弱、细菌性阴道病和阴道菌群失调。乳杆菌活菌体的制备和在本发明的组合物中的使用方法，在公开的技术和本领域专业人员的知识范围以内。

根据本发明的组合物，其中所述组合物优选阴道用水溶性胶体组合物，其特征在于：(1) 水溶性胶体组合物中异麦芽酮糖的含量为 0.1 ~ 20.0%(w/v)，优选为 3.0 ~ 12.0%(w/v)；(2) 还含有总量为 0.1~2.5% (w/v) 的选自下组的防腐剂和/或抗菌剂：苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、山梨酸钠、乙酸、乙酸钠、双乙酸、双乙酸钠、脱氢乙酸、脱氢乙酸钠、丙酸、丙酸钠、丙酸钙、辛酸、辛酸钠、癸酸、癸酸钠、十一烯酸、十一烯酸钠、月桂酸、月桂酸钠、纳他霉素、乳铁蛋白、乳铁蛋白肽中的一种或其组合。(3) 其中所述非活性辅料成分为非流动性、粘性、水溶性胶体基质；其中所述胶体基

质优选为黄原胶、卡波姆，特别优选为黄原胶；（4）其中所述组合物的 pH 值为 3.5 ~ 6.0，特别是 4.0 ~ 5.5 的范围；（5）还可选择性地含有总量为 0.0015~1.0%（w/v）的选自下组的雌激素类物质和/或植物雌激素类物质：己烯雌酚、雌二醇、雌三醇、大豆甙、大豆甙元、染料木甙、染料木素、黄豆黄素、黄豆黄素甙元、鸡豆黄素、香豆雌酚、芒柄花黄素；（6）还可选择性地含有选自下组的阴道黏膜细胞保护物质和/或抗氧化物质，包括但不限于：0.15~5.0%（w/v）芦荟提取物、0.15~5.0%（w/v）薰衣草提取物、0.0015~1.0%（w/v）维生素 E、0.0015~1.0%（w/v）维生素 A、0.0015~1.0%（w/w）维生素 D、0.0015~1.0%（w/w）维生素 C；（7）还可选择性含有选自下组的抑菌剂和/或杀菌剂：甲硝唑、替硝唑、克霉唑、氟康唑。当所述抑菌剂和/或杀菌剂为甲硝唑时，甲硝唑的浓度为 0.00015 ~ 0.1%(w/v)，优选浓度为 0.0015 ~ 0.01%(w/v)。

本发明还特别涉及一种向女性阴道内补充糖类物质的方法，包括向有此需要的女性阴道内给予有效量的本发明的含有异麦芽酮糖的阴道用组合物，使异麦芽酮糖的每日用量为 5 ~ 2000 毫克，优选 150 ~ 1200 毫克，可将每日用量分 1 ~ 2 次给予，使异麦芽酮糖的每次用量不超过 1000 毫克。

本发明还特别涉及一种非治疗性阴道日常保健、或日常养护、或日常湿润、或日常润滑、或日常清洁以增加阴道外阴的舒适感、或清新感的方法，包括向有此需要的女性阴道内给予有效量的本发明的阴道用组合物，使异麦芽酮糖的每日用量为 5 ~ 2000 毫克，优选 150 ~ 1200 毫克，可将每日用量分 1 ~ 2 次给予，使异麦芽酮糖的每次用量不超过 1000 毫克。本发明的方法可增加或保持阴道外阴的清洁感、舒适感、或清新感。

本发明还特别涉及一种于月经后、或同房后、或绝经后、或阴道冲洗后、或阴道用药后治疗后对阴道非治疗性地进行清洁、或保健、或养护、或湿润、或润滑，以增强阴道的自净作用、或增强阴道对病原菌的抵抗力的方法，其中所述方法包括向有此需要的女性阴道内给予有效量的本发明的阴道用组合物，使异麦芽酮糖的每日用量为 5 ~ 2000 毫克，优选 150 ~ 1200 毫克，可将每日用量分 1 ~ 2 次给予，使异麦芽酮糖的每次用量不超过 1000 毫克。本发

明的方法可增强阴道的自净作用、或增强阴道对病原菌的抵抗力，保持阴道的清洁、卫生、和健康。

本发明还特别涉及一种增强阴道酸度、或维护阴道酸度在 3.5~4.5 范围内的方法，包括向有此需要的女性阴道内给予有效量的、本发明的组合物，使异麦芽酮糖的每日用量为 5~2000 毫克，优选 150~1200 毫克，可将每日用量分为 1~2 次给予，使异麦芽酮糖的每次用量不超过 1000 毫克。本发明的方法能增强阴道的酸度，或维护阴道酸度在 3.5~4.5 的范围、特别是 3.8~4.3 的范围。

本发明还特别涉及一种促进阴道内的保护性乳杆菌生长，特别是促进保护性的卷曲乳杆菌、或詹氏乳杆菌、或格氏乳杆菌生长的方法，包括向有此需要的女性阴道内给予有效量的、本发明的组合物，使异麦芽酮糖的每日用量为 5~2000 毫克，优选 150~1200 毫克，可将每日用量分 1~2 次给予，使异麦芽酮糖的每次用量不超过 1000 毫克。本发明的方法可显著促进阴道内的保护性乳杆菌生长，特别是促进保护性的卷曲乳杆菌、或詹氏乳杆菌、或格氏乳杆菌的生长。

本发明还特别涉及一种消除或减轻阴道分泌物异味、或消除或减轻阴道外阴瘙痒、或消除或减轻阴道外阴干涩、或消除或减轻阴道外阴疼痛、性交痛等不适，或改善白带性状等的方法，包括向有此需要的女性阴道内给予有效量的、本发明的组合物，使异麦芽酮糖的每日用量为 5~2000 毫克，优选 150~1200 毫克，可将每日用量分 1~2 次给予，使异麦芽酮糖的每次用量不超过 1000 毫克。本发明的方法可显著改善白带性状、消除或减轻白带臭味，以及消除或减轻阴道外阴瘙痒、干涩、疼痛等不适。

本发明还特别涉及一种调节阴道菌群、或抗菌治疗后恢复阴道有益菌群、或预防或治疗阴道菌群失调、或预防或治疗细菌性阴道病的方法，包括向有此需要的女性阴道内给予有效量的、本发明的组合物，使异麦芽酮糖的每日用量为 5~2000 毫克，优选 150~1200 毫克，可将每日用量分为 1~2 次给予，使异麦芽酮糖的每次用量不超过 1000 毫克。本发明还可用于调节阴道菌群、或用于预防或治疗阴道菌群失调、或用于抗菌治疗后恢复阴道有益菌群、或用于预防或治疗细菌性阴道病。

具体实施方式

组合物实施例

实施例 1

按如下方法制备组合物：将异麦芽酮糖 9.0 克，苯甲酸钠 0.05 克，脱氢乙酸钠 0.02 克，丙酸钠 0.5 克，黄原胶 2.7 克混匀，加入蒸馏水 100 毫升，搅拌、混匀，使异麦芽酮糖、苯甲酸钠、脱氢乙酸钠和丙酸钠溶解，黄原胶溶胀呈均匀粘性胶体；调 pH 值至 5.0；112.6°C、20 分钟灭菌，即得本发明的水溶性胶体组合物。按单次剂量无菌、密封分装，每支 5 克。

实施例 2

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 4.5 克，脱氢乙酸钠 0.02 克，丙酸钠 0.5 克，纳他霉素 2.5 毫克，黄原胶 2.6 克，蒸馏水 100 毫升，pH 5.0，灭菌，单次剂量无菌密封包装，每支 5.0 克。

实施例 3

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 12.0 克，苯甲酸钠 0.15 克，脱氢乙酸钠 0.01 克，丙酸钠 0.5 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升，pH 4.8。

实施例 4

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 20.0 克，苯甲酸钠 0.2 克，黄原胶 3.0 克，蒸馏水 100 毫升，pH5.0。

实施例 5

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 0.1 克，苯甲酸钠 0.2 克，月桂酸 0.1 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升，pH6.5。

实施例 6

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 8 克，葵酸钠 0.1 克，乳铁蛋白 1.0 克，芦荟提取物 5 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升，pH6.5。

实施例 7

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 1.5 克，丙酸钠 0.375 克，辛酸钠 0.15 克，乳铁蛋白 0.25 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升，pH6.5。

实施例 8

按下述配比称取原料，异麦芽酮糖 45.0 克，异麦芽糖 443.5 克，苯甲酸钠 1.5 克，嗜酸乳杆菌菌粉 10 克（含低聚果糖与活菌 5×10^{10} CFU）；将以上成分充分混合均匀，分装胶囊 1000 粒，每粒胶囊含异麦芽酮糖 45 毫克、异麦芽糖 443.5 毫克、苯甲酸钠 1.5 毫克、嗜酸乳杆菌 5×10^7 CFU。

实施例 9

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 9.0 克，丙酸钠 0.45 克，苯甲酸钠 0.05 克，脱氢乙酸钠 0.025 克，雌三醇 0.1 克，黄原胶 3.0 克，水 87.375 克，pH 5.0。

实施例 10

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 10 克，苯甲酸钠 0.15 克，纳他霉素 2 毫克，黄原胶 3.0 克，蒸馏水 100 毫升，pH 5.0。

实施例 11

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 5.0 克，苯甲酸钠 0.2 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升，pH 5.5。

实施例 12

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 2.0 克，丙酸钠 0.7 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 94.8 克，pH 6.5。

实施例 13

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 6.0 克，丙酸钠 0.5 克，脱氢乙酸钠 0.02 克，辛酸钠 0.05 克，乳铁蛋白 0.5 克，纳他霉素 10 毫克、大豆总异黄酮 0.02 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升，pH 6.5。

实施例 14

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 1.5 克，脱氢乙酸钠 0.025 克，黄原胶 3.0 克，蒸馏水 100 毫升，pH 6.5。

实施例 15

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 8.5 克，脱氢乙酸钠 0.02 克，辛酸钠 0.1 克，乳铁蛋白 0.5 克，黄原胶 2.8 克，蒸馏水 100 毫升，pH 6.5。

实施例 16

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 8.0 克，丙酸钠 0.5 克，黄原胶 2.8 克，蒸馏水 100 毫升，pH 6.2。

实施例 17

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 8.0 克，丙酸钠 0.5 克，脱氢乙酸钠 0.02 克，乳铁蛋白 0.5 克，黄原胶 2.8 克，蒸馏水 100 毫升，pH 6.2。

实施例 18

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 9.0 克，苯甲酸钠 0.2 克，氟康唑 0.2 克，黄原胶 3.0 克，蒸馏水 100 毫升，pH 6.5。

实施例 19

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 1.5 克，丙酸钠 0.5 克，脱氢乙酸钠 0.025 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升，pH 5.4。

实施例 20

按下述配比称取原料：异麦芽酮糖 20.0 克，丙酸钠 0.5 克，苯甲酸钠 0.05 克，脱氢乙酸钠 0.02 克，甲硝唑 0.005 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 毫升。

先将异麦芽酮糖、丙酸钠、苯甲酸钠、脱氢乙酸钠、黄原胶混合均匀，加蒸馏水 90 毫升，搅拌，加热并搅拌，灭菌；加入无菌甲硝唑液 10 毫升（含甲硝唑 0.005 克），调 pH 5.0 并混合均匀。

实施例 21

按下述配比称取原料：异麦芽酮糖 35 克，异麦芽糖 63 克，苯甲酸钠 0.5 克，甲硝唑 0.01 克，克霉唑 0.01 克，硬脂酸镁 1.48 克，混合均匀，压片，每片 0.5 克；每片含异麦芽酮糖 175 毫克，异麦芽糖 315 毫克，苯甲酸钠 2.5 毫克，甲硝唑 0.05 毫克，克霉唑 0.05 毫克，硬脂酸镁 7.4 毫克。

实施例 22

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：异麦芽酮糖 10 克，苯甲酸 0.05 克，多聚卡波菲（Polycarbophil）2.0 克，蒸馏水 100 毫升，pH 4.0

实施例 23

按下述配比称取原料，基本按实施例 1 的方法制备了组合物：苯甲酸 0.15 克，异麦芽酮糖 3.0 克，异麦芽糖 9.0 克，氟康唑 0.15 克，黄原胶 2.5 克，蒸馏水 100 克，pH 5.4。

实施例 24

按下述配比和方法制备水溶液组合物：称取异麦芽酮糖 12 克，苯甲酸钠 0.2 克，加入蒸馏水 100 毫升中，搅拌、溶解，调 pH 值 5.0，灭菌，即得水溶液组合物。

实施例 25

按下述配比和方法制备水溶液组合物：称取异麦芽酮糖 12 克，丙酸钠 0.5 克，脱氢乙酸钠 0.02 克，辛酸钠 0.1 克，加入蒸馏水 100 毫升中，搅拌、溶解，调 pH 值 5.0，灭菌。

以下参照下列实验实施例说明本发明的制备用途和方法的有益效果。

实验实施例 1:

1、实验目的:

观察异麦芽酮糖对 BV 细菌产酸的促进作用，并与异麦芽糖、蔗糖、麦芽糖的作用比较。

2、实验方法:

(1) 实验分组:

- ① 异麦芽酮糖组：含 1% (w/v) 异麦芽酮糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4;
- ② 异麦芽糖组：含 1% (w/v) 异麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4;
- ③ 蔗糖组：含 1% (w/v) 蔗糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4;
- ④ 麦芽糖组：含 1% (w/v) 麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4;

各组凝胶的配制，基本按照组合物实施例 1 的方法进行，完成之后灭菌，加小牛血清，分装试管每支 5 克，备用。

(2) BV分泌物标本：5例BV病人的阴道分泌物，纳入标准为：

- ① 符合临床诊断 BV 的 Amsel 标准，其中阴道分泌物的 pH>4.6;
- ② 阴道分泌物涂片、Gram 染色、镜检，Nugent 评分 ≥ 7 分;
- ③ 无其它阴道疾病，且两周内未使用过抗菌药物。

(3) 符合入选标准的 BV 阴道分泌物标本，采样后立即接种前述 4 种含糖凝胶，37°C、微需氧培养 46 小时，分别于 14 小时、36 小时和 46 小时用精密 pH 试纸检测凝胶基质的 pH 值。

3、实验结果:

如表 1 所示，BV 分泌物标本在 4 种含糖凝胶中培养，14 小时，各实验管 pH 值由初始的 5.4，分别下降到 3.8~5.1 范围内，其中异麦芽酮糖凝胶的 pH 值最低，蔗糖凝胶的 pH 值最高，异麦芽糖凝胶、麦芽糖凝胶的 pH 值居中。培养 36 小时，四种含糖凝胶的 pH 值均降至 4.6 以下，仍以异麦芽酮糖凝胶的 pH 值最低，蔗糖凝胶的 pH 值最高。培养 46 小时，四种含糖凝胶的 pH 值相同，均 ≤ 3.8 。

表 1. 四种糖类物质对 BV 细菌产酸的影响

	异麦芽酮糖	异麦芽糖	蔗糖	麦芽糖
0 小时:				
标本 1	5.4	5.4	5.4	5.4
标本 2	5.4	5.4	5.4	5.4
标本 3	5.4	5.4	5.4	5.4
标本 4	5.4	5.4	5.4	5.4
标本 5	5.4	5.4	5.4	5.4
14 小时:				
标本 1	≤ 3.8	3.8	≤ 3.8	3.8
标本 2	4.1	4.1~4.4	4.4	4.1~4.4
标本 3	3.8~4.1	4.1~4.4	4.8~5.1	4.1~4.4
标本 4	4.1	4.4	4.8~5.1	4.6
标本 5	4.1~4.4	4.1~4.4	4.4~4.6	4.1~4.4
36 小时:				
标本 3	≤ 3.8	≤ 3.8	4.4~4.6	≤ 3.8

标本 4	≤ 3.8	≤ 3.8	≤ 3.8	≤ 3.8
标本 5	≤ 3.8	4.1~4.4	4.4~4.6	4.1~4.4
46 小时:				
标本 1	≤ 3.8	≤ 3.8	≤ 3.8	≤ 3.8
标本 2	≤ 3.8	≤ 3.8	≤ 3.8	≤ 3.8

4、讨论

本实施例的含糖凝胶接种 BV 分泌物标本、微需氧培养 14 小时, 4/5 异麦芽酮糖凝胶的 pH 值降至 4.1 以下, 4/5 异麦芽糖凝胶和 4/5 麦芽糖凝胶的 pH 值降至 4.4 以下, 而 4/5 蔗糖凝胶的 pH 值仍在 4.4 或以上。

继续培养至 36 小时, 3/3 异麦芽酮糖凝胶的 pH 值均降至 3.8 或以下, 2/3 蔗糖凝胶的 pH 值仍高于 4.4, 2/3 异麦芽糖凝胶和 2/3 麦芽糖凝胶的 pH 值降至 3.8 或以下。

当继续培养至 46 小时, 分别接种 2 例标本的四种含糖凝胶的 pH 值无差异, 均 ≤ 3.8 。

所述结果显示: BV 菌群代谢异麦芽酮糖产酸, 快于其代谢异麦芽糖和麦芽糖产酸, 尤其快于其代谢蔗糖产酸。

阴道正常 pH 值一般认为在 3.5~4.5 的范围, BV 病人阴道分泌物的 pH 值高于 4.6。各种细菌生长均有其最适宜的 pH 值范围, 当 pH 值为 5.4 时嗜中性细菌的生长与产酸代谢受到抑制, 而耐酸的乳杆菌、双歧杆菌等细菌仍能生长、产酸, 所以乳杆菌选择性培养基的 pH 值一般为 5.4。乳酸也被认为在维护阴道菌群正常、抵抗 BV 菌群和其它病原菌中起主要作用^[12]。本实施例含糖凝胶的初始 pH 值 5.4, 在这样的 pH 条件下, BV 菌群、主要是其中的乳酸菌代谢糖类物质产酸。凝胶 pH 值下降越快, 对 BV 有害细菌的抑制作用也越快, 对 BV 菌群的调节作用也将更快。

从本实施例的研究结果看, 微需氧条件下异麦芽酮糖更易于被 BV 细菌代谢产酸, 因而其优于异麦芽糖和麦芽糖, 尤其显著优于蔗糖, 故异麦芽酮糖更适合用于制备本发明的阴道用组合物。

实验实施例 2:

1、实验目的:

观察异麦芽酮糖对 BV 细菌产酸的促进作用, 并与葡萄糖、果糖、甘露糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽糖的作用比较。

2、实验方法:

(1) 实验分组:

- ① 葡萄糖组: 含 1.5% (w/v) 葡萄糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4;
- ② 果糖组: 含 1.5% (w/v) 果糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4;
- ③ 甘露糖组: 含 1.5% (w/v) 甘露糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4;
- ④ 蔗糖组: 含 1.5% (w/v) 蔗糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4;
- ⑤ 麦芽糖组: 含 1.5% (w/v) 麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4;
- ⑥ 异麦芽糖组: 含 1.5% (w/v) 异麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4;
- ⑦ 异麦芽酮糖组: 含 1.5% (w/v) 异麦芽酮糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4;

各组半固体琼脂的配制, 基本按照组合物实施例 1 的方法进行, 完成之后灭菌, 加小牛血清, 分装试管每支 5 克, 备用。

(2) BV分泌物标本: 5例BV病人的阴道分泌物, 纳入标准为:

- ① 符合临床诊断 BV 的 Amsel 标准, 其中阴道分泌物的 pH>4.6;
- ② 阴道分泌物涂片、Gram 染色、镜检, Nugent 评分 ≥ 7 分;
- ③ 无其它阴道疾病, 且两周内未使用过抗菌药物。

(3) 符合入选标准的 BV 阴道分泌物标本, 采样后立即床旁接种前述 7 种无菌含糖半固体琼脂, 37°C、厌氧培养 24 小时, 用精密 pH 试纸检测琼脂基质的 pH 值。

3、实验结果:

如表 2 所示, 5 例 BV 分泌物标本分别在 7 种含糖半固体琼脂中厌氧培养 24 小时, 所有半固体琼脂的 pH 值均下降, 由初始时的 5.4, 降至 3.8~4.6。按 pH 值由低到高排序, 最低为异麦芽酮糖和麦芽糖, 异麦芽糖次之, 第三为蔗糖, 第四为葡萄糖、最后为果糖和甘露糖。

表 2. 七种糖类物质对 BV 细菌产酸的影响

标本	1	2	3	4	5
葡萄糖	4.1~4.4	4.1	3.8~4.1	3.8~4.1	3.8
果糖	4.6	4.1	3.8~4.1	4.1	3.8
甘露糖	4.4~4.6	4.4	3.8~4.1	4.1	3.8
蔗糖	4.1~4.4	3.8~4.1	3.8	4.1	3.8
麦芽糖	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8
异麦芽糖	3.8~4.1	4.1	3.8	3.8	3.8
异麦芽酮糖	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8

4、讨论

本实施例的 7 种半固体琼脂分别接种 5 例 BV 分泌物标本、厌氧培养 24 小时, 各培养管的 pH 值均下降, 下降的幅度反映了厌氧条件下 BV 细菌代谢各种糖产酸的效率。总体上, 双糖半固体琼脂的 pH 下降幅度, 大于单糖半固体琼脂的 pH 值下降幅度。双糖中, 又以异麦芽酮糖和麦芽糖半固体琼脂的 pH 值下降幅度, 大于蔗糖、异麦芽糖半固体琼脂的 pH 值下降幅度。显示 BV 菌群代谢双糖、尤其是代谢异麦芽酮糖和麦芽糖产酸, 快于其代谢蔗糖和异麦芽糖产酸, 更快于代谢单糖产酸。

阴道正常 pH 值一般认为在 3.5~4.5 的范围, BV 病人阴道分泌物的 pH 值高于 4.6。各种细菌生长均有其最适宜的 pH 值范围, 当 pH 值为 5.4 时嗜中性细菌的生长与产酸代谢受到抑制, 而耐酸的乳杆菌、双歧杆菌等细菌仍能生长、产酸, 所以乳杆菌选择性培养基的 pH 值一般为 5.4。乳酸也被认为在维护阴道菌群正常、抵抗 BV 菌群和其它病原菌中起主要作用^[12]。本实施例含糖凝胶的初始 pH 值 5.4, 在这样的 pH 条件下, BV 菌群、主要是其中

的乳酸菌代谢糖类物质产酸。凝胶 pH 值下降越快，对 BV 有害细菌的抑制作用也越快，对 BV 菌群的调节作用也会更快。

综上所述，本实施例结果显示：厌氧条件下异麦芽酮糖具有较强的促进阴道菌群代谢产酸的作用，适合用于制备本发明的阴道用组合物。

实验实施例 3:

1、实验目的:

观察异麦芽酮糖与抗菌剂联合，对 BV 细菌产酸的影响，并与蔗糖和异麦芽糖进行比较。

2、实验方法:

(1) 实验分组:

- ① 蔗糖防腐剂组：含 1.5% (w/v) 蔗糖、0.5% (w/v) 丙酸钠、0.025% (w/v) 脱氢乙酸钠、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂，pH5.4;
- ② 异麦芽糖防腐剂组：含 1.5% (w/v) 异麦芽糖、0.5% (w/v) 丙酸钠、0.025% (w/v) 脱氢乙酸钠、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂，pH5.4;
- ③ 异麦芽酮糖防腐剂组：含 1.5% (w/v) 异麦芽酮糖、0.5% (w/v) 丙酸钠、0.025% (w/v) 脱氢乙酸钠、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂，pH5.4;
- ④ 蔗糖对照组：含 1.5% (w/v) 蔗糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂，pH5.4;
- ⑤ 异麦芽糖对照组：含 1.5% (w/v) 异麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂，pH5.4;
- ⑥ 异麦芽酮糖对照组：含 1.5% (w/v) 异麦芽酮糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂，pH5.4

各组半固体琼脂的配制，基本按照组合物实施例 1 的方法进行，完成之后灭菌，加小牛血清，分装试管每支 5 克，备用。

(2) BV 分泌物标本：2 例 BV 病人的阴道分泌物，纳入标准为：

- ① 符合临床诊断 BV 的 Amsel 标准，其中阴道分泌物的 pH>4.6;
- ② 阴道分泌物涂片、Gram 染色、镜检，Nugent 评分≥7 分;
- ③ 无其它阴道疾病，且两周内未使用过抗菌药物。

(3) 符合入选标准的 BV 阴道分泌物标本，采样后立即床旁接种前述 3 种含糖和防腐剂的半固体琼脂、3 种对照组琼脂，37°C、厌氧培养 40 小时，分别于培养 30~32 小时、培养 40~48 小时，用精密 pH 试纸检测琼脂基质的 pH 值。

3、实验结果:

如表 3 所示，培养 30~32 小时，不含抗菌剂的各对照组半固体琼脂的 pH 值均降至 3.8、或 3.8~4.1。

各含糖和防腐剂的半固体琼脂、厌氧培养 30~32 小时，半固体琼脂基质的 pH 值均下降，但仍然高于 4.4。培养 40~48 小时，2 例异麦芽酮糖半固体琼脂基质的 pH 值低于 4.1; 2 例蔗糖半固体琼脂基质的 pH 值分别为 4.1、4.4; 2 例异麦芽糖半固体琼脂基质的 pH 值分别为 4.4、4.6。

表 3. 糖类物质与抗菌剂联合作用对 BV 细菌产酸的影响

标本	标本1 (30h)	标本1 (40h)	标本2 (32h)	标本2 (48h)
蔗糖-抗菌剂	4.6	4.1	4.4~ 4.6	4.4
异麦芽糖-抗菌剂	4.6	4.4	4.6	4.6
异麦芽酮糖-抗菌剂	4.4~ 4.6	3.8	4.4	3.8~ 4.1
蔗糖对照	3.8	/	3.8	/
异麦芽糖对照	3.8	/	3.8~4.1	/
异麦芽酮糖对照	3.8	/	3.8	/

4、讨论:

含相同防腐剂的三种含糖半固体琼脂接种 BV 标本、培养 30~48 小时，异麦芽酮糖组琼脂基质的 pH 值最低，40~48 小时降至 3.8、3.8~4.1，显著低于蔗糖组的 4.1、4.4，和异麦芽糖组的 4.4、4.6。

三个对照组分别含有 3 种糖，不含防腐剂。其琼脂基质的 pH 值下降较快，30~32 小时 5/6 的 pH 值即降至 3.8，1/6 的 pH 值降至 3.8~4.1，显著低于

含防腐剂的琼脂基质，显示防腐剂对阴道细菌产酸有显著影响，其中对阴道细菌代谢蔗糖和异麦芽糖产酸的影响最突出，产酸减少、基质 pH 值下降慢，至 40~48 小时 3/4 的琼脂基质 pH 值仍为 4.4 或以上，1/4 为 4.1。异麦芽酮糖亦受防腐剂的影响，但程度相对较轻，一方面其琼脂基质 pH 值在 40~48 小时可降至 3.8 或 3.8~4.1，同时又避免了过度产酸和 pH 值下降得过低。本实施例的结果显示，异麦芽酮糖显著优于蔗糖和异麦芽糖，更适合与防腐剂联合用于制备本发明的含有防腐剂和/或抗菌剂的阴道用组合物。

实验实施例 4

1、实验目的：

观察异麦芽酮糖凝胶对 BV 细菌生长的促进作用，并与异麦芽糖凝胶、蔗糖凝胶、麦芽糖凝胶的作用比较。

2、实验方法：

(1) 实验分组：

- ① 异麦芽酮糖组：含 1% (w/v) 异麦芽酮糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4；
- ② 异麦芽糖组：含 1% (w/v) 异麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4；
- ③ 蔗糖组：含 1% (w/v) 蔗糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4；
- ④ 麦芽糖组：含 1% (w/v) 麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.5% (w/v) 黄原胶，pH5.4；

各组凝胶的配制，基本按照组合物实施例 1 的方法进行，完成之后灭菌，加小牛血清，分装试管每支 5 克，备用。

(2) BV 分泌物样本：20 例 BV 病人的阴道分泌物，纳入标准为：

- ① 符合临床诊断 BV 的 Amsel 标准；
- ② 阴道分泌物涂片、Gram 染色、镜检，Nugent 评分 ≥ 7 分；
- ③ 无其它阴道疾病，且两周内未使用过抗菌药物。

(3) 符合入选标准的 BV 阴道分泌物样本，采样后立即接种前述四种含糖凝胶，37°C、微需氧培养 48 小时，转种含 1% (w/v) 葡萄糖、5% (w/v)

小牛血清的改良 MRS 平皿,微需氧培养 20~48 小时,分纯、增菌,作 16s rDNA 测序鉴定菌种。

3、实验结果:

(1) 如表 4 所示,分别用 4 种含糖凝胶培养 BV 阴道分泌物,异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶、蔗糖凝胶均从 9 例 BV 分泌物培养出乳杆菌,麦芽糖凝胶自 8 例 BV 分泌物培养出乳杆菌,均未培养出嗜性乳杆菌。培养出乳杆菌的 9 例 BV,其中 4 例为詹氏乳杆菌,2 例为格氏乳杆菌,各 1 例卷曲乳杆菌、黏膜乳杆菌、淀粉乳杆菌。显示这四种含糖凝胶对詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌、以及卷曲乳杆菌等的促生长作用较强,对嗜性乳杆菌的促生长作用弱。

表 4. 四种含糖凝胶对 BV 分泌物中的乳杆菌的选择性促生长作用

	异麦芽酮糖	异麦芽糖	蔗糖	麦芽糖
詹氏乳杆菌	4 ¹ (3 ² , 4, 11, 18)	4(3, 4, 11, 18)	4(3, 4, 11, 18)	3(4, 11, 18)
格氏乳杆菌	2 (1, 20)	2(1, 20)	2 (1, 20)	2(1, 20)
卷曲乳杆菌	1 (15)	1(15)	1(15)	1(15)
嗜性乳杆菌	0	0	0	0
黏膜乳杆菌	1 (4)	1 (4)	1 (4)	1 (4)
淀粉乳杆菌	1 (9)	1 (9)	1 (9)	1 (9)
合计	9	9	9	8

注 1: 数字“4”指詹氏乳杆菌培养阳性样本的总例数,表 2、3 同此;

注 2: 括号内的数字指詹氏乳杆菌培养阳性的样本的编号,表 2、3 同此。

(2) 如表 5 所示,分别用 4 种含糖凝胶培养 BV 阴道分泌物,仅麦芽糖凝胶自 1 例 BV 分泌物培养出了两歧双歧杆菌,其余 3 种凝胶均未培养出短双歧杆菌、齿双歧杆菌和长双歧杆菌,显示异麦芽酮糖、异麦芽糖、蔗糖这 3 种含糖凝胶对 BV 菌群中常见双歧杆菌的生长促进作用较弱。

表 5. 四种含糖凝胶对 BV 分泌物中的双歧杆菌的选择性促生长作用

	异麦芽酮糖	异麦芽糖	蔗糖	麦芽糖
两歧双歧杆菌	0	0	0	1(8)
短双歧杆菌	0	0	0	0

齿双歧杆菌	0	0	0	0
长双歧杆菌	0	0	0	0
合计	0	0	0	1

(3) 如表 6 所示, 分别用 4 种含糖凝胶培养 BV 阴道分泌物, 其中麦芽糖凝胶自 6 例 BV 分泌物培养出阴道加德纳菌, 蔗糖凝胶自 3 例 BV 分泌物培养出阴道加德纳菌, 异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶自 2 例 BV 分泌物培养出阴道加德纳菌, 显示麦芽糖凝胶有利于阴道加德纳菌生长。

表 6. 四种含糖凝胶对 BV 分泌物中的阴道加德纳菌的选择性促生长作用

	异麦芽酮糖	异麦芽糖	蔗糖	麦芽糖
阴道加德纳菌	2(15, 19)	2(15, 19)	3(8, 15, 19)	6(2, 6, 7, 9, 15, 19)
合计	2	2	3	6

4、讨论

相关研究发现^[14], BV 菌群复杂, 以阴道加德纳菌、普雷沃氏菌、巨型球菌、动弯杆菌、消化链球菌、微单胞菌属、厌氧球菌属、纤毛菌属等为优势菌, 其中阴道加德纳菌 (*Gardnerella vaginalis*) 的 16S rRNA 基因序列的拷贝数量占 BV 病人阴道总菌群 16S rRNA 基因序列的拷贝数量的 29.1%, 居第一位, 是第二位的普氏菌属 (*Prevotella*) 13.2% 的两倍多, 是第三位巨型球菌属 (*Megasphaera*) 9.8% 的三倍。在中间型 BV, 阴道加德纳菌的 16S rRNA 基因序列的拷贝数量, 占中间型 BV 病人阴道总菌群 16S rRNA 基因序列的拷贝数量的 30.5%, 排列在惰性乳杆菌之后居第二位。可见, 阴道加德纳菌是 BV 病人阴道菌群最有代表性的优势菌之一。

BV 菌群中乳杆菌减少, 其中惰性乳杆菌 (*L. iners*) 的 16S rRNA 基因序列的拷贝数量以 6.6% 在 BV 总菌群 16S rRNA 基因序列的拷贝数量排序中居第六位, 卷曲乳杆菌仅为 0.3%, 而詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌更少, 与其它种类的乳杆菌加在一起总计才 0.2%。但在中间型 BV, 惰性乳杆菌的 16S rRNA 基因序列的拷贝数量占阴道总菌群 16S rRNA 基因序列的拷贝数量则达到了

43.9%，居第一位，卷曲乳杆菌占 1.2%，詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌与其它乳杆菌的数量总计为 6.1%。

本实施例选用 20 例典型 BV 病人阴道分泌物，分别用 4 种含糖凝胶进行培养，其中异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶、蔗糖凝胶自 9 例 BV 分泌物培养出乳杆菌，麦芽糖凝胶自 8 例 BV 分泌物培养出乳杆菌。培养出的乳杆菌的种类，以 BV 菌群中稀少的詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌为主，其次为 BV 菌群中稀少的卷曲乳杆菌、黏膜乳杆菌和淀粉乳杆菌。BV 菌群中数量最多的惰性乳杆菌，反而未培养出来。提示含异麦芽酮糖、异麦芽糖、蔗糖、麦芽糖的 4 种凝胶对 BV 分泌物中的乳杆菌具有选择性，促进詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌、卷曲乳杆菌等生长的作用强，而对惰性乳杆菌生长的促进作用弱。

BV 菌群中阴道加德纳菌最多。本实施例中，麦芽糖凝胶自 6 例 BV 分泌物培养出阴道加德纳菌，蔗糖凝胶自 3 例 BV 分泌物培养出阴道加德纳菌，异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶自 2 例 BV 分泌物培养出阴道加德纳菌，提示麦芽糖凝胶更适合阴道加德纳菌生长，而异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶相对不适应阴道加德纳菌生长。

BV 菌群中的双歧杆菌多为两歧双歧杆菌、短双歧杆菌、齿双歧杆菌和长双歧杆菌。本实施例中，仅麦芽糖凝胶自 1 例 BV 分泌物培养出两歧双歧杆菌，而异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶、蔗糖凝胶均未培养出双歧杆菌，提示异麦芽酮糖、异麦芽糖、和蔗糖对 BV 分泌物中的双歧杆菌无显著促生长作用。

5、结论：异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶、蔗糖凝胶和麦芽糖凝胶均具有选择性促进 BV 分泌物中的詹氏乳杆菌、格氏乳杆菌、卷曲乳杆菌、黏膜乳杆菌和淀粉乳杆菌生长的作用，但对惰性乳杆菌生长无明显促进作用。

异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶、蔗糖凝胶对 BV 分泌物中的双歧杆菌无明显促生长作用。

麦芽糖凝胶可能对 BV 阴道分泌物中的阴道加德纳菌生长具有一定促进作用，而异麦芽酮糖凝胶、异麦芽糖凝胶对阴道加德纳菌的促生长作用不明显。

综上所述,本实施例的研究结果提示在调节菌群的作用方面,异麦芽酮糖优于麦芽糖,更适合用于制备本发明的阴道用组合物。

实验实施例 5:

1、实验目的:了解白色假丝酵母菌对异麦芽酮糖的代谢,并与异麦芽糖、蔗糖、麦芽糖比较。

2、实验方法:

(1) 实验分组:

异麦芽酮糖组:含 1.5% (w/v) 异麦芽酮糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清, pH7.0;

异麦芽糖组:含 1.5% (w/v) 异麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清, pH 值 7.0;

蔗糖组:含 1.5% (w/v) 蔗糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清, pH7.0;

麦芽糖组:含 1.5% (w/v) 麦芽糖、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清, pH7.0;

严格无菌操作配制上述各组培养液,分装试管每管 5 毫升,备用。

(2) 实验菌株:白色假丝酵母菌 2 株,均分离自假丝酵母菌阴道炎患者。

(3) 无菌操作,分别接种 2 株白色假丝酵母菌菌液于各试验管, 37°C、需氧培养 72 小时, 80°C、30 分钟灭菌,离心分离上清,每支 5 毫升,用 HPLC 高效液相色谱法检测各管的糖含量。

3、实验结果:

如表 7 所示,用浓度均为 1.5% (w/v) 的异麦芽酮糖培养液、异麦芽糖培养液、蔗糖培养液、麦芽糖培养液培养白色假丝酵母菌 72 小时,四种糖的浓度不同程度降低,下降幅度依次为麦芽糖、异麦芽酮糖、异麦芽糖、蔗糖。麦芽糖浓度由 1.5% (w/v) 降至 0.05% (w/v) 以下。

表 7. 白色假丝酵母菌对四种糖的代谢利用

	异麦芽酮糖 (克%)	异麦芽 (克%)	蔗糖 (克%)	麦芽糖 (克%)
白色假丝酵母菌 1	0.11	0.74	1.04	未检出 ¹
白色假丝酵母菌 2	0.12	0.76	0.95	未检出

注1: 检出限0.05% (w/v)。

4、讨论:

据相关文献报道, 假丝酵母菌阴道外阴炎的病原菌 85%以上为白色假丝酵母菌。两株白色假丝酵母菌分别用四种含糖培养液培养 72 小时, 麦芽糖的残余浓度两株菌均低于 0.05% (w/v), 异麦芽酮糖的残余浓度一株为 0.11% (w/v), 一株为 0.12% (w/v), 异麦芽糖的残余浓度一株为 0.74% (w/v), 另一株为 0.76% (w/v), 蔗糖的残余浓度最高, 一株 1.04% (w/v), 一株 0.95% (w/v)。显示四种糖均能被白色假丝酵母菌代谢利用, 其中对麦芽糖的代谢能力相对最强, 对蔗糖的代谢能力相对最弱。从本实施例的研究结果看, 蔗糖、异麦芽糖、异麦芽酮糖, 优于麦芽糖, 更适合用于制备本发明的阴道用组合物。

实验实施例 6

1、实验目的:

观察异麦芽酮糖与防腐剂联合, 对 BV 细菌生长的影响。

2、实验方法:

(1) 异麦芽酮糖琼脂: 1.5% (w/v) 异麦芽酮糖、0.05% (w/v) 苯甲酸钠、0.5% (w/v) 丙酸钠、0.025% (w/v) 脱氢乙酸钠、无糖 MRS 基础培养液、5% (w/v) 小牛血清、0.45% (w/v) 琼脂, pH5.4。

基本按照组合物实施例 1 的方法配制, 完成之后灭菌, 加小牛血清, 分装试管每支 5 克, 备用。

(2) BV分泌物标本: 1例BV病人的阴道分泌物, 纳入标准为:

① 符合临床诊断 BV 的 Amsel 标准, 其中阴道分泌物的 pH>4.6;

② 阴道分泌物涂片、Gram 染色、镜检，Nugent 评分 ≥ 7 分；

③ 无其它阴道疾病，且两周内未使用过抗菌药物。

(3) 符合入选标准的 BV 阴道分泌物标本，阴道拭子采样后床旁洗脱于无糖 MRS 基础培养液中，立即接种异麦芽酮糖琼脂，37°C、厌氧培养 40 小时，取琼脂基质和分泌物标本液，送上海 Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd.，做 16s rDNA 宏基因检测分析，和做 qPCR 检测乳杆菌属、卷曲乳杆菌、惰性乳杆菌、詹氏乳杆菌、格式乳杆菌、阴道加德纳菌、和普雷沃氏菌。

3、实验结果：

(1) 如表 8 所示，此例 BV 病人的阴道分泌物的细菌以 *Sneathia* (43.02%)、*Prevotella* (19.44%)、*Gardnerella* (12.68%) 为优势菌。接种异麦芽酮糖琼脂、厌氧培养 40 小时，则乳杆菌占 91%，阴道加德纳菌 6%。

(2) 如表 9 所示，其中所列各 DNA 拷贝数，分别为 0.12 毫升琼脂基质、0.12 标本悬液中所含的细菌 DNA 拷贝数。qPCR 检测 BV 分泌物标本中的 7 种细菌，普雷沃氏菌、阴道加德纳菌数量大，乳杆菌属、卷曲乳杆菌、惰性乳杆菌数量少，詹氏乳杆菌极少，格式乳杆菌未检出。qPCR 检测异麦芽酮糖琼脂中的 7 种细菌，卷曲乳杆菌属的数量巨大，詹氏乳杆菌数量稀少，格式乳杆菌未检出。惰性乳杆菌、普雷沃氏菌的数量减少。阴道加德纳菌的数量有所增加。

表 8. 异麦芽酮糖与抗菌剂联合对 BV 细菌生长的影响

细菌属、种	BV 阴道分泌物 (%)	异麦芽酮糖-抗菌剂凝胶 (%)
乳杆菌 (<i>Lactobacillus</i>)	0.82	90.59
加德纳菌 (<i>Gardnerella</i>)	12.68	6.41
链球菌 (<i>Streptococcus</i>)	0.13	0.07
韦荣氏球菌 (<i>Veillonella</i>)	0.07	0.01
消化链球菌 (<i>Peptostreptococcus</i>)	0.13	0
梭菌 (<i>Clostridium sensu stricto</i>)	0	0
纤毛菌属 (<i>Sneathia</i>)	43.02	0.47
普雷沃氏菌 (<i>Prevotella</i>)	19.44	0.29
气球菌 (<i>Aerococcus</i>)	0.01	0.37

阿托波菌 (Atopobium)	3.94	0.04
戴阿利斯特菌 (Dialister)	0.59	0.14
Saccharofermentans*	9.26	0.08
放线菌 (Actinomyces)	0	0.25
微单孢竣属 (Finegoldia)	0	0.44
巨球菌 (Megasphaera)	3.36	0.07
Parvimonas*	1.3	0.07
Enterorhabdus*	0.63	0.03
其它 (Others)	4.59	0.5
合计	100	100

*: 暂无中文名

表 9. 异麦芽酮糖对 BV 细菌生长的影响

	乳杆菌属	嗜性乳杆菌	卷曲乳杆菌	詹氏乳杆菌	格式乳杆菌	阴道加德纳菌	普雷沃菌属
BV 标本细菌 DNA 拷贝数	372946	56296	2355	3.2	-	4214328	14866667
异麦芽酮糖琼脂细菌 DNA 拷贝数	275033167	33167	889000000	12.2	-	18000000	911000

4、讨论:

上述实验结果显示, BV 细菌在含抗菌剂的异麦芽酮糖琼脂、厌氧培养 40 小时, 宏基因检测显示乳杆菌大量生长成为优势菌, 而 *Sneathia*、普雷沃氏菌 (*Prevotella*)、阴道加德纳菌 (*Gardnerella*) 在菌群构成比中的比例显著下降。进一步做 qPCR 检测, 验证了优势的乳杆菌为卷曲乳杆菌, 其 DNA 序列的拷贝数由 2355 增加至 889000000, 增长 377494 倍, 而嗜性乳杆菌的 DNA 序列拷贝数, 却由 56296 减少至 33167。普雷沃氏菌数量减少。詹氏乳杆菌的数量仍极为稀少。注意到卷曲乳杆菌的 DNA 拷贝数多于乳杆菌属的 DNA 拷贝数, 与 Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd. 的专家讨论, 认为可能因为乳杆菌属的引物没有包括属下面所有的菌、以及卷曲乳杆菌引物扩出的不止包括卷曲乳杆菌一种菌这两方面的原因。阴道加德纳菌的绝对数量也有所增加, 增加 4.27 倍, 可能与琼脂

基质所含小牛血清支持阴道加德纳菌生长有关。

本实施例结果显示，异麦芽酮糖对保护性的卷曲乳杆菌的生长具有显著促进作用，对嗜性乳杆菌的生长则无促进作用，提示异麦芽酮糖与抗菌剂联合，适合用于制备本发明的组合物。

实验实施例 7

1、实验目的：

观察不同防腐剂对假丝酵母菌与乳杆菌的抗菌作用。

2、实验方法：

(1) 配制含不同防腐剂的培养液

以基础培养液【含 0.5% (w/v) 异麦芽酮糖、无糖 MRS 培养液、5% (w/v) 小牛血清】配制以下含不同浓度防腐剂的培养液：

A. 0.1% (w/v) 苯甲酸钠

B. 0.2% (w/v) 苯甲酸钠

C. 0.02% (w/v) 脱氢乙酸钠

D. 0.25% (w/v) 丙酸钠组

E. 0.5% (w/v) 丙酸钠组

F. 0.02% (w/v) 脱氢乙酸钠+0.25% (w/v) 丙酸钠组

G. 0.02% (w/v) 脱氢乙酸钠+0.5% (w/v) 丙酸钠组

各组培养液的 pH 值均调至 5.4，灭菌分装试管，每管 2 毫升。

(2) 试验菌株接种与培养：各试验管分别接种 $(1\sim5) \times 10^5$ cfu/ml 光滑假丝酵母菌分离株菌悬液、 $(1\sim5) \times 10^5$ cfu/ml 詹氏乳杆菌分离株菌悬液。光滑假丝酵母菌 37°C、需氧培养 72 小时，詹氏乳杆菌微需氧培养 22 小时。

(3) 结果观察：于 22 小时观察詹氏乳杆菌培养管浊度，于 72 小时观察光滑假丝酵母菌培养管浊度。

3、试验结果

如表 10 所示，0.1% (w/v) 苯甲酸钠对乳杆菌即有较强抑制作用，0.2% (w/v) 苯甲酸钠可在 22 小时完全抑制乳杆菌生长。0.02% (w/v) 脱氢乙酸钠、0.5% (w/v) 丙酸钠，对乳杆菌生长抑制作用弱，22 小时乳杆菌浊度显著增加。

0.2%（w/v）苯甲酸钠、0.02%（w/v）脱氢乙酸钠、0.5%（w/v）丙酸钠分别单独作用，对光滑假丝酵母菌抑制作用均较弱，72 小时光滑假丝酵母菌浊度显著增加。

脱氢乙酸钠、丙酸钠对光滑假丝酵母菌具有协同抑制作用，0.02%（w/v）脱氢乙酸钠与 0.5%（w/v）丙酸钠联合，72 小时可完全抑制光滑假丝酵母菌生长，其浊度无变化。而对詹氏乳杆菌抑制作用相对较弱，22 小时其浊度增加。

表 10.防腐剂对乳杆菌、假丝酵母菌生长的影响

	0.1%苯 甲酸钠	0.2%苯 甲酸钠	0.02%脱氢 乙酸钠	0.25% 丙酸钠	0.5%丙酸 钠	0.02%脱氢乙酸钠 0.25%丙酸钠	0.02%脱氢乙酸钠 0.5%丙酸钠
詹氏乳杆菌（0h）	0.6	0.7	0.5	0.6	0.4	0.5	0.4
詹氏乳杆菌（22h）	0.9	0.7	1.4	5.2	1.7	1.4	0.7
光滑假丝酵母菌（0h）	0.6	0.6	0.5	0.5	0.4	0.4	0.2
光滑假丝酵母菌（72h）	7.1	2.1	3.9	>7.5	6.3	2.6	0.2

*：表 10 中的浓度均为 “w/v”

4、结论

本实验实施例结果证实，0.02%（w/v）脱氢乙酸钠与 0.5%（w/v）丙酸钠联合，其对光滑假丝酵母菌的抑制作用较 0.2%（w/v）苯甲酸钠的作用强。

0.02%（w/v）脱氢乙酸钠与 0.5%（w/v）丙酸钠联合，其对詹氏乳杆菌的抑制作用，则比 0.2%（w/v）苯甲酸钠的抑制作用弱。

实验实施例 8

筛选雌性恒河猴 2 只，其阴道分泌物 pH 值分别为 5.1、4.8，阴道细菌以阴性杆菌、阳性球菌为主，未见粗大阳性杆菌，白细胞少。给予组合物实施例 1 的异麦芽酮糖凝胶 0.5 克、每天 1 次、连续 5 天，复查，阴道 pH 值分别为 3.8、4.1，阴道细菌以粗大阳性杆菌为主。

实验实施例 9

女性，28岁，健康，无不适。月经周期规律，于月经干净后三天取阴道拭子，测 pH 值 4.8，涂片革兰氏染色镜检，见较多粗大阳性杆菌、多种阳性球菌，及少数阴性杆菌，白细胞少见。自愿用组合物实施例 2 的组合物做阴道清洁护理，每次 3 克、连续两天，再取阴道拭子，测 pH 值 4.1，涂片革兰氏染色镜检，查见较多粗大阳性杆菌，阳性球菌、阴性杆菌减少。自觉阴部更干净、舒适、清爽。

实验实施例 10

女性，52岁，绝经1年多。常感觉阴部干涩，偶有轻微刺痛。取阴道拭子，测 pH 值 5.1，涂片革兰氏染色镜检，细菌少，多为阳性球菌，偶见阳性杆菌，白细胞少见。自愿用组合物实施例 13 的组合物做阴道清洁护理，每次 5 克、连续 5 天，再取阴道拭子，测 pH 值 4.1，涂片染色镜检，粗大阳性杆菌多、其他种类的细菌少，自觉阴部舒适，无干涩或刺痛。

实验实施例 11

女性 35 岁。因白带增多、有异味在医院诊断为“阴道炎”，用含甲硝唑、克霉唑、醋酸氯己定的“双唑泰栓”治疗，每天 1 次、连续 5 天，白带减少、异味消失。取阴道拭子，测 pH 值 5.4，涂片革兰氏染色镜检，细菌稀少，未查见白细胞。自愿用组合物实施例 6 的组合物做阴道清洁护理，每天 1 次、每次 5 克，连续 3 天，再取阴道拭子，测 pH 值 3.8，涂片革兰氏染色镜检，查见较多粗大阳性杆菌。自觉舒适、自在。

实验实施例 12

女性 41 岁。体检时阴道分泌物涂片检查，怀疑“阴道菌群失调”，但平时无明显不适。取阴道拭子，测 pH 值为 4.6，涂片染色镜检，粗大阳性杆菌少，阳性球菌多，可见染色不定小杆菌，Nugent 评分 5 分，白细胞少，符合中间型 BV 表现。自愿用组合物实施例 17 的组合物做阴道清洁护理，每天 1 次、每次 5 克，连续 5 天，复查，阴道分泌物 pH 值 3.8，阴道细菌以粗大阳性杆菌为主，阳性球菌、阴性小杆菌显著减少。自觉白带干净、清爽。

实验实施例 13

女性 45 岁，反复白带增多、伴阴部瘙痒多年，用抗菌药物治疗后症状减轻或消失，但常于月经后复发。取阴道拭子，测 pH 值 5.4，涂片染色镜检，粗大阳性杆菌稀少，细菌以多种阴性杆菌、阴性球菌、阳性球菌为主，白细胞少，符合细菌性阴道病表现。自愿用组合物实施例 20 的组合物清洁护理阴道，每天 1 次、每次 5 克，连续 5 天，复查阴道分泌物 pH 值 4.1，阴道细菌以粗大阳性杆菌为主，阴性杆菌、阴性球菌、阳性杆菌显著减少，无不适。

参考文献:

1. Rita Verhelst, Hans Verstraelen, Geert Claeys, et al. Comparison between Gram stain and culture for the characterization of vaginal microflora: Definition of a distinct grade that resembles grade I microflora and revised categorization of grade I microflora. BMC Microbiology 2005, 5:61. Doi:10.1186/1471-2180-5/61
2. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, et al. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. Microbiology, 2004, 150: 2565-2573.
3. Linhares IM, Giraldo PC, Baracat EC. New findings about vaginal bacterial flora. Rev Assoc Med Bras, 2010, 56(3): 370-374.
4. Rampersaud R, Randis TM, Ratner AJ, et al. Microbiota of the upper and lower genital tract. Semin Fetal Neonatal Med, 2012, 17(1): 51-57.
5. Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. N Engl J Med, 2005, 353:1899-1911.
6. M. WILKS, Soad Tabaqchali. Quantitative bacteriology of the vaginal flora during the menstrual cycle. J. Med. Microbiol, Vol. 24 (1987), 241-245.
7. Tevi-Benissan C, Belec L, Levy M, et al. In vivo semen associated pH neutralization of cervicovaginal secretions. Clin Diagn Lab Immunol 1997;4:367-74.
8. Jenny L. Martino and Sten H. Vermund. Vaginal Douching: Evidence for Risks or Benefits to Women's Health. Epidemiologic Reviews 2002;24:109-124.
9. Livengood CH. Bacterial vaginosis: an overview for 2009. Rev Obstet Gynecol, 2009, 2(1):28-37.
10. Livengood CH 3rd, Ferris DG, Wiesenfeld HC et al. Effectiveness of two tinidazole regimens in treatment of bacterial vaginosis: a randomized controlled trial. Obstet Gynecol. 2007; 110:302-309.

11. Thomas KK, Sanchez S, Garcia PJ et al. Why do different criteria for ‘cure’ yield different conclusions in comparing two treatments for bacterial vaginosis? *Ser Transm Dis*. 2005; 32:526-530.
12. Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol*. 2012;66:371-89
13. Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J Infect Dis* ,1999;180:1950–6.
14. Shipitsyna E, Roos A, Datcu R, et al. Composition Of The Vaginal Microbiota In Women of Reproductive Age - Sensitive And Specific Molecular Diagnosis Of Bacterial Vaginosis Is Possible? *PLoS ONE* 8(4): e60670. Doi: 10.1371/pone.0060670.

权 利 要 求 书

1、异麦芽酮糖在制备阴道用组合物中的用途，其中所述组合物中异麦芽酮糖的含量为 0.05~20.0% (w/w)。

2、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述组合物还含有总量为 0.05~2.5% (w/w) 的防腐剂和/或抗菌剂。

3、如权利要求 2 所述的用途，其特征在于，所述防腐剂和/或抗菌剂包括：苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、山梨酸钠、乙酸、乙酸钠、双乙酸、双乙酸钠、脱氢乙酸、脱氢乙酸钠、丙酸、丙酸钠、丙酸钙、辛酸、辛酸钠、癸酸、癸酸钠、十一烯酸、十一烯酸钠、月桂酸、月桂酸钠、纳他霉素、乳铁蛋白、乳铁蛋白肽中的一种或其组合。

4、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述组合物还含有总量为 0.001~1.0% (w/w) 的雌激素类和/或植物雌激素类的物质。

5、如权利要求 4 所述的用途，其特征在于，所述雌激素类和/或植物雌激素类的物质包括：己烯雌酚、雌二醇、雌三醇、大豆甙、大豆甙元、染料木甙、染料木素、黄豆黄素、黄豆黄素甙元、鸡豆黄素、香豆雌酚、芒柄花黄素中的一种或其组合。

6、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述组合物还含有阴道黏膜细胞保护物质和/或抗氧化物质。

7、如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述组合物中还包括：0.1~5.0% (w/w) 的芦荟提取物、0.1~5.0% (w/w) 的薰衣草提取物、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 E、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 A、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 D、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 C 中的一种或其组合。

8、如权利要求 1 至 7 任一项所述的用途，其特征在于，所述用途为制备包括但不限于下列的用于阴道的组合物产品或组合物制剂：非治疗性的阴道用健康产品、或阴道用日用品、或阴道保健用品、或阴道护理用品、或阴道用化妆品、或阴道用卫生用品、或阴道用清洁用品，或治疗性的阴道用健康产品、阴道用医疗器械、或阴道用药品，或为用于阴道的清洁剂、或养护剂、或除异味剂、或止痒剂、或清新剂、或润湿剂、或润滑剂、或消毒剂、或抗菌剂、或表面杀微生物剂、或微生态调节剂、或微生物调节剂。

9、如权利要求 1 至 7 任一项所述的用途，其特征在于，所述用途为制备包括但不限于下列用于阴道的组合物剂型：水溶性胶体剂、或水溶液剂、或气雾剂、或软膏剂、或霜剂、或胶囊剂、或微囊剂、或栓剂、或泡腾剂、或片剂。

10、如权利要求 1 至 7 任一项所述的用途，其特征在于，所述组合物中异麦芽酮糖的含量为 1.5~12.0% (w/w)。

11、如权利要求 1 至 7 任一项所述的用途，其特征在于，所述组合物适用于增强阴道酸度，或维护阴道酸度在 pH 值 3.5~4.5 的范围内。

12、如权利要求 1 至 7 任一项所述的用途，其特征在于，所述组合物用于促进阴道内的保护性乳杆菌生长，所述保护性乳杆菌为卷曲乳杆菌、或詹氏乳杆菌、或格氏乳杆菌。

13、一种用于阴道的组合物，其特征在于，所述组合物含有 0.05~20.0% (w/w) 的异麦芽酮糖。

14、如权利要求 13 所述的组合物，其特征在于，所述组合物还含有总量为 0.05~2.5% (w/w) 的防腐剂和/或抗菌剂。

15、如权利要求 14 所述的组合物，其特征在于，所述防腐剂和/或抗菌剂包括：苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、山梨酸钠、乙酸、乙酸钠、双乙酸、双乙酸钠、脱氢乙酸、脱氢乙酸钠、丙酸、丙酸钠、丙酸钙、辛酸、辛酸钠、癸酸、癸酸钠、十一烯酸、十一烯酸钠、月桂酸、月桂酸钠、纳他霉素、乳铁蛋白、乳铁蛋白肽中的一种或其组合。

16、如权利要求 13 所述的组合物，其特征在于，所述组合物还含有总量为 0.001~1.0% (w/w) 的雌激素类物质和/或植物雌激素类物质。

17、如权利要求 14 所述的组合物，其特征在于，所述组合物还含有总量为 0.001~1.0% (w/w) 的雌激素类物质和/或植物雌激素类物质。

18、如权利要求 16 所述的组合物，其特征在于，所述雌激素类物质和/或植物雌激素类物质包括：己烯雌酚、雌二醇、雌三醇、大豆甙、大豆甙元、染料木甙、染料木素、黄豆黄素、黄豆黄素甙元、鸡豆黄素、香豆雌酚、芒果花黄素中的一种或其组合。

19、如权利要求 13 所述的组合物，其特征在于，所述组合物还含有阴道黏膜细胞保护物质和/或抗氧化物质。

20、如权利要求 13 所述的组合物，其特征在于，所述组合物还包括：0.1~5.0% (w/w) 的芦荟提取物、0.1~5.0% (w/w) 的薰衣草提取物、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 E、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 A、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 D、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 C 中的一种或其组合。

21、如权利要求 14 所述的组合物，其特征在于，所述组合物还包括：0.1~5.0% (w/w) 的芦荟提取物、0.1~5.0% (w/w) 的薰衣草提取物、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 E、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 A、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 D、0.001~1.0% (w/w) 的维生素 C 中的一种或其组合。

22、如权利要求 13 所述的组合物，其特征在于，所述组合物中异麦芽酮糖的含量为 1.5~12.0% (w/w)。

23、如权利要求 13 所述的组合物，其中所述组合物为非流动性、粘性、水溶性胶体剂，其特征在于：

(1) 所述组合物含有 0.1~20%(w/v)的异麦芽酮糖；

(2) 所述组合物还含有总量为 0.1~2.5% (w/v) 的下述防腐剂和/或抗菌剂：苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、山梨酸钠、乙酸、乙酸钠、双乙酸、双乙酸钠、脱氢乙酸、脱氢乙酸钠、丙酸、丙酸钠、丙酸钙、辛酸、辛酸钠、癸酸、癸酸钠、十一烯酸、十一烯酸钠、月桂酸、月桂酸钠、纳他霉素、乳铁蛋白、乳铁蛋白肽中的一种或其组合；

(3) 所述组合物还含有非流动性、粘性、水溶性胶体基质，其中所述胶体基质为黄原胶、卡波姆；

(4) 所述水溶性胶体的 pH 值为 3.5~6.0。

24、如权利要求 23 所述的组合物，其特征在于，所述组合物含有 3.0~12%(w/v)的异麦芽酮糖。

25、如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物，其特征在于，所述组合物为包括但不限于下列用于阴道的组合物产品或组合物制剂：非治疗性的阴道用健康产品、或阴道用日用品、或阴道保健用品、或阴道护理用品、或阴道用化妆品、或阴道卫生用品、或阴道清洁用品，或治疗性的阴道用健康产品、阴道用医疗器械、或阴道用药品，或为用于阴道的清洁剂、或养护剂、或除异味剂、或止痒剂、或清新剂、或润湿剂、或润滑剂、或消毒剂、或抗菌剂、或表面杀微生物剂、或微生态调节剂、或微生物调节剂。

26、如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物，其特征在于，所述组合物为包括但不限于下列的阴道用剂型：水溶性胶体剂、或水溶液剂、或气雾剂、或霜剂、或软膏剂、或胶囊剂、或微囊剂、或栓剂、或泡腾剂、或片剂。

27、一种向女性阴道内补充糖类物质的方法，其特征在于，所述方法包括向女性阴道内给予如权利要求 13 至 24 任一项所述组合物。

28、一种非治疗性的女性阴道日常保健、或日常养护、或日常湿润、或日常润滑、或日常清洁以增加阴道外阴的舒适感、或清新感的方法，其特征在于，所述方法包括向女性阴道内给予如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物。

29、一种于月经后、或同房后、或绝经后、或阴道冲洗后、或阴道用药治疗后对阴道非治疗性地进行清洁、或保健、或养护、或润滑、或湿润，以增强阴道的自净作用、或增强阴道对病原菌的抵抗力的方法，其特征在于，所述方法包括向女性阴道内给予如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物。

30、一种增强阴道酸度或者维护阴道酸度的方法，其特征在于，所述方法包括向女性阴道内给予如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物；所述方法能够增强阴道酸度、或维护阴道酸度在 pH 值 3.5~4.5 的范围内。

31、一种促进阴道内的保护性乳杆菌生长的方法，其特征在于，所述保护性乳杆菌为卷曲乳杆菌、或詹氏乳杆菌、或格氏乳杆菌，所述方法包括向女性阴道内给予如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物。

32、一种消除或减轻阴道分泌物异味、或消除或减轻阴道外阴瘙痒、或消除或减轻阴道外阴干涩、或消除或减轻阴道外阴疼痛、性交痛等不适感，或改善白带性状的方法，其特征在于，所述方法包括向女性阴道内给予如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物。

33、一种调节阴道菌群、或抗菌治疗后恢复阴道有益菌群、或预防或治疗阴道菌群失调、或预防或治疗细菌性阴道病的方法，其特征在于，所述方法包括向女性阴道内给予如权利要求 13 至 24 任一项所述的组合物。