NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO (11) **302603** (13) B1

(51) Int Cl[6] A 61 L 15/20, 15/44

Patentstyret

(21) Søknadsnr	901888	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	27.04.90		
(24) Løpedag	27.04.90	(85) Videreføringsdag	
(41) Alm. tilgj.	29.10.90	(30) Prioritet	27.04.89, US, 343965
(45) Meddelt dato	30.03.98		17.04.90, US, 508521

(73) Patenthaver McNeil-PPC Inc, Van Liew Avenue, Milltown, NJ 08850, US
(72) Oppfinner Susan K. Brown-Skrobot, Hamilton Square, NJ, US
(74) Fullmektig Bryns Patentkontor AS, 0106 Oslo

(54) Benevnelse **Absorberende produkt og menstruasjonstampong**

(56) Anførte publikasjoner DE C 3309530, FR 1307930, US 4921694

(57) Sammendrag

Absorberende produkter, spesielt menstruasjonstamponger, for absorbering av kroppsvæsker så som menstruasjonsvæske, blod og sårutsondringer, omfatter en mengde av en forbindelse som er effektiv til å hemme produksjonen av toksisk sjokksyndrom toksin-1 ved Staphylococcus aureus-bakterier når produktene blir bragt i kontakt med bakterien. Forbindelsen er valgt fra gruppen bestående av monoestere av en polyhydrisk alifatisk alkohol og en C_8-C_{18} fettsyre; diestere av en polyhydrisk alifatisk alkohol og en C_8-C_{18} fettsyre; og blandinger derav. Monoesterne og diesterne har minst en hydroksylgruppe assosiert med deres alifatiske alkoholrest.

Foreliggende oppfinnelse vedrører absorberende produkter og menstruasjonstamponger. Menstruasjonstampongene som, på grunn av tilstedeværelse deri eller derpå, av visse hemmende midler, reduserer mengden av toksiner produsert av bakterier som kommer i kontakt deri.

Menstruelt oppstående toksisk sjokksyndrom (TSST-1), som er en alvorlig og enkelte ganger en fatal multisystemsykdom knyttet til infeksjon eller kolonisering av Staphylococcus aureus (S. aureus) bakterier, har vært knyttet til anvendelse av tamponger i løpet av menstruasjonen. Sykdommen antas å være forårsaket av toksisk sjokksyndrom, toksin-1 (TSST-1), toksinet produsert av de fleste staphylococciske stammene isolert fra menstruerende TSS-pasienter.

Etter publikasjonen av rapporter som assosierer toksisk sjokksyndrom med anvendelse av tamponger, har et antall forskere utført studier beregnet på å vurdere virkningen av tamponger på veksten av S. aureus-bakterier, samt virkningen av tamponger på produksjon av TSST-1 ved den bakterien. Tidligere forsøk på å bestemme rollen til tamponger i TSS ga inngripende data. Schlievert et al. (Obstet. Gynecol., Vol. 64, s. 666-670, novemner 1984), studerte virkningen av tamponger på S. aureus for å evaluere om tampongkomponentene øker veksten av S. aureus og produksjonen av toksisk sjokksyndrom toksin-1. Det ble konkludert at under testbetingelsene i deres studie, tampongkomponentene hverken tilveiebringer næringsstoffer for veksten av toksisk sjokksyndrom S.aureus eller faktorer som induserer produksjon av toksisk sjokksyndrom toksin-1 over kontrollnivåene. Etter seks timer inkubasjon var noen kommersielt tilgjengelige tamponger som ble undersøkt hemmende overfor bakteriell vekst, og undertrykte toksinproduksjonen. Andre undertrykte toksinproduksjon, men ikke celleveksten. En tampong hemmet celleveksten, men økte mengden av toksin produsert. Derimot rapporterte Tierno og Hanna (Contraception, Vol. 31, s. 185-

194, 1985) at i deres eksperimenter stimulerte tampongene S. aureus til å produsere TSST-1.

Reiser et al. (J. Clin. Microbiol., Vol. 25, nr. 8, s. 1450-1452, august 1987) rapporterte deretter resultatene av forsøk som de utførte for å bestemme virkningen av fire typer tamponger på produksjon av toksisk sjokksyndrom toksin-1. Mengden av luft tilgjengelig for tampongene som ble undersøkt var begrenset av det som er innbefattet i sekker (fremstilt fra cellulosepølseinnfatning med molekylvektavkutt på mindre enn 10.000) hvori tampongene ble innesluttet i løpet av testingen. Denne metoden var nødt til å være fordelaktig på grunn av at den begrensende mengden av tilgjengelig luft var antatt å etterligne nærmere enn tidligere anvendte metoder in vivo-tilstanden i vagina i løpet av menstruasjonen med en tampong på plass, og på grunn av at tampongene som ble undersøkt ikke ble endret før testingen. Resultatene av testene utført av Reiser et al. viste at tamponger tilveiebringer øket overflateareal for S. aureus-bakterier til å vokse og tilstrekkelig oksygen for toksinproduksjon. Ingen signifikant hemming av veksten av staphylococci-bakterier eller TSST-produksjon ved noen av de undersøkte tampongene ble observert.

Robbins et al., publisert i J. Clinical Microbiol., vol. 25, nr. 8, s. 1446-1449, august 1987 , på samme tid som Reiser et al., rapporterte virkningen av 17 kommersielt tilgjengelige tamponger på TSST-1-toksinproduksjon ved anvendelse av en skivemembranagar (DMA) metode, med inkubasjon ved 37°C i 19 timer under 5% CO_2 i luft. Filtermembraner over agarmedium (med eller uten blod) i små petri-skåler, ble spredt inokulert med en TSST-1 produserende stamme av S. aureus. Robbins et al., konkluderte med at hovedrollen til tamponger i TSS må være at de tilveiebringer en fibrøs overflate for tung kolonisering og tilstrekkelig luft for TSST-1-produksjon. I tillegg fant de bevis for hemming av TSST-1-produksjon ved tilsetningsstoffer så som deodorant/overflateaktivt

middel anvendt i en kommersielt tilgjengelig deodoranttampong og en reduksjon i TSST-1-produksjon ved hemming av veksten av S. aureus som ble observert i noen forskjellige kommersielt tilgjengelige tamponger. Det var antatt både hemming av TSST-1-produksjon og hemming av S. aureus-veksten kan vise seg å være viktig for å redusere risikoen for TSS.

US-patent nr. 4.405.323 til Auerbach beskriver en tampong konstruert for å fjerne faren for toksisk sjokksyndrom og dysmenorrhea. Tampongen har inkorporert deri et antibakterielt middel som dispergerer ved kontakt med kroppsvæsker og forhindrer utvikling av organismene som produserer toksiner som forårsaker toksisk sjokksyndrom. Blant antibakterielle materialer beskrevet for anvendelse er povidoniod-forbindelse, kvikksølv, sink, penicillin, erytromycin og nitrofurazon.

PS-publiskasjon nr. WO 86/05388 (publisert 25. september, 1986) til Kass, beskriver at innbefatning av et salt av et ikke-toksisk divalent kation i absorberende bind, f.eks. menstruasjonstamponger, hemmer produksjonen av toksisk sjokksyndrom toksin-1 og andre staphylococciske produkter i løpet av anvendelsen av nevnte absorberende bind. Egnede salter omfatter salter av magnesium, barium, kalsium eller strontium (foretrukket) eller av andre divalente kationer så som sink, mangan, kobber, jern, nikkel o.l. Den anioniske delen av saltet er ikke kritisk. Magnesiumstearat og magnesiumacetat er spesielt foretrukne salter for anvendelse i oppfinnelsen.

I US-patent nr. 4.374.522 til Olevsky er det beskrevet at mønsteret ved anvendelse av menstruasjonstampong ser ut til å vise at høy absorberende kapasistet med tilsvarende utvidet bruksperiode for visse tamponger er faktorer som bidrar med dannelsen av toksisk sjokksyndrom. Oppfinnelsen teoretiserer med at tamponger som har begrenset absorberende kapasitet og som krever relativt oftere byttinger, kan være ønskelig.

Olevsky-patentet tilveiebringer en tampong fremstilt av konvensjonelle celluloseholdige materialer, så som rayonfibre, som er blitt komprimert til en patronform med en åpen bunnoverflate forseglet med et fluidimpermeabelt ark. Den fluidimpermeable bunnen og den tradisjonelt patronformede tampongen definerer et hulkjernet sentralreservoirområde som virker som et reservoir for menstruasjonsvæske i overskudd.

US-patent nr. 4.431.427 til Lefren et al. beskriver tamponger for menstruasjon omfattende fysiologisk trygge, vannoppløselige syrer i deres monomeriske, oligomeriske eller polymeriske former. Citronsyre, glykolsyre, maleinsyre, vinsyre og melkesyre er beskrevet å være nyttige ved utførelse av oppfinnelsen. Tilstedeværelse av en eller flere av ovennevnte syrer i en tampong hemmer veksten av bakterier som er ansvarlig for toksisk sjokk. Når en syre blir anvendt i dets polymere form, kan tampongen i tillegg omfatte et enzym for å hydrolysere den polymeriske syren til dens monomeriske form.

Kanadisk patent nr. 1.123.155 til Sipos beskriver en tampong for menstruasjon som forhindrer toksisk sjokksyndrom i løpet av menstruasjonsstrømningen. Formen til tampongen, som er åpen ved innføringsenden og lukket ved utførselsenden, er tett omgitt ved utvidet tilstand av en fluidsikker, tynn og fleksibel membran. Denne membranen, som kan bli dannet av polyetylenstykket, er skrånende mot vaginalveggen i løpet av anvendelse av tampongen, er nøytral for vaginalslimhinnen og er fullstendig upermeabel for bakterier, virus og toksiske nedbrytningsprodukter fra menstruasjonsstrømningen.

Kanadisk patent nr. 1.192.701 til Bardhan, beskriver en tampong for absorpsjon av menstruasjonsstrømning og omfatter et indre lag av væskeabsorberende materiale og et ytre lag som omgir og omslutter det indre laget. Menstruasjonsvæsker kan strømme innover til det indre laget, men det ytre laget er ugjennomtrengelig for passering av menstruasjonsvæske ut

over fra det indre laget. En mengde væskeabsorberende veker er anbragt fra det indre laget gjennom aperturer dannet i det ytre laget virker som ledningsrør for strømningen av menstruasjonsvæske fra utsiden av tampongen til det indre laget derav. Den beskrevne strukturen minsker tilgjengeligheten av utsondring på utsiden av tampongen med en resulterende reduksjon i sannsynligheten for vekst av S. aureus og derved produksjon av toksin. Dette patentet beskriver også at en antimikrobiell forbindelse som er baktericidisk eller bakteriostatisk overfor S.aureus kan bli innbefattet i det indre laget. Det antimikrobielle midlet kan være i form av et antibiotikum (så som penicillin, erytromycin, tetracyklin eller neomycin), et kjemoterapeutisk middel (så som et sulfonamid) eller et desinfekseringsmiddel (så som fenol). Patentet hevder at på grunn av at tampongen er beskyttet ved dens ytre lag fra kontakt med vaginalveggen, er risikoen for en allergisk eller annen negativ reaksjon overfor det antimikrobielle midlet forminsket, og på grunn av at det antimikrobielle midlet også er beskyttet av det ytre laget fra kontakt med menstruell frigjøring, er det liten risiko for destruksjon av kommensale organismer i vagina eller utvikling av resistens overfor det antimikrobielle midlet av S. aureus i en menstruell frigivelse utenfor vagina.

S. Notermans et al. (Journal of Food Safety, vol. 3 (1981), s. 83-88) rapporterte at glyserylmonolaurat hemmer toksinproduksjonen til Clostridium botulinum type A, type B og type E. når anvendt i proporjon på 5 g pr. kg. kjøttoppslemming (pH 6,0-6,2). Denne artikkelen nevner ikke Staphylococcus aureus og heller ikke toksin(er) produsert derifra og nevner heller ikke absorberende produkter eller toksisk sjokksyndrom.

US-patent nr. 4.585.792 til Jacob et al., beksriver at L-askorbinsyre vil aktivere toksiner kjent for å bidra til toksisk sjokksyndrom når den blir topisk applisert til

vaginalområdet til en kvinne i løpet av menstruasjonen. Askorbinsyreforbindelsen kan være inne i en vaginal tampong. Beskrivelsen i US-4.722.937 har samme effekt.

US-patent nr. 4.413.986 til Jacobs beskriver en sterilt pakket tampongoppstilling for steril innsetting av en tampong i vagina, og med et lederør anbragt rundt et lederør og et fleksibelt lag knyttet til den indre enden av føringsrøret og festet til den indre enden av lederøret. Ved anvendelse, når førerøret blir dyttet gjennom lederøret og inn i vagina, blir det felksible laget dyttet over den indre enden av innføringsrøret og rekker langs yttersiden derav. Delen av innføringsrøret som er innskutt i vagina er til alle tider fullstendig belagt av det fleksible laget.

Foreliggende oppfinnelse vedrører følgelig absorberende produkt omfattende absorberende materiale og en forbindelse valgt fra gruppen bestående av:

a) monoestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og hvori nevnte monoester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkoholrest;

b) diestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og hvori nevnte diester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkoholrest; og

c) blandinger av nevnte monoestere og diestere, kjennetegnet ved at produktet omfatter minst et toksininhiberende middel som består i det vesentlige av nevnte forbindelse og hvor forbindelsen er tilstede i en mengde som er effektiv til å hemme produksjonen av toksisk sjokksyndrom-toksin-1 ved Staphylococcus aureus-bakterier når nevnte produkt blir utsatt for nevnte bakterier.

Det er også beskrevet menstruasjonstampong omfattende et absorberende materiale og en forbindelse valgt fra gruppen bestående av:

a) monoestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og hvori nevnte monoester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkoholrest;

b) diestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og hvori nevnte diester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkholrest; og

c) blandinger av nevnte monoestere og diestere, kjennetegnet ved at tampongen omfatter minst ett toksininhiberende middel som består i det vesentlige av nevnte forbindelse og hvor forbindelsen er tilstede i en mengde som er effektiv til å hemme produksjonen av toksisk sjokk-syndrom-toksin-1 ved Staphylococcus aureus-bakterier når nevnte produkt blir utsatt for nevnte bakterier.

Fettsyredelen av ovennevnte monoestere og diestere kan være avledet fra kaprylsyre, kaprionsyre, laurinsyre, myristinsyre, palmitinsyre og stearinsyre, som er mettede fettsyrer med kjedelengder på C_8, C_{10}, C_{12}, C_{14}, C_{16} og C_{18}. Fettsyredelen av ovennevnte monoestere og diestere kan også være avledet fra umettede fettsyrer med karbonkjedelengder varierende fra C_8 til C_{18}, et eksempel på slike umettede fettsyrer er oleinsyre. Foretrukket fettsyre for anvendelse ved utførelse av foreliggende oppfinnelse er laurinsyre, en mettet fettsyre med kjemisk formel $C_{11}H_{23}COOH$.

Betegnelsen "alifatisk" har i beskrivelsen og kravene samme betydning som blir anvendt i organisk kjemis, dvs. "alifatisk" refererer til organiske forbindelser karakterisert ved

rett eller forgrenet kjedet arrangering av innbefattede karbonatomer.

Betegnelsen "polyhydrisk" betegner i beskrivelsen og kravene tilstedeværelse i en kjemisk forbindelse av minst to hydroksyl (OH) grupper. En polyhydrisk alifatisk alkohol er derfor en som har minst to hydroksylgrupper og hvori karbonryggraden enten er lineær eller forgrenet.

Polyhydriske alkoholer egnede for dannelse av monoestere og/eller diestere for anvendelse i utførelse av foreliggende oppfinnelse, er 1,2-etandiol; 1,2,3-propantriol (glyserol); 1,3-propandiol; 1,4-butandiol; 1,2,4-butantriol o.l. Foretrukket polyhydrisk alifatisk alkohol for dannelse av monestere og diestere for anvendelse i utførelsen i foreliggende oppfinnelse er 1,2,3-propantriol (vanligvis betegnet glyserol) med formel $HOCH_2CH(OH)CHJ_2OH$.

Det er å bemerke at estrene som er nyttige ved utførelse av foreliggende oppfinnelse har minst en hydroksylgruppe assosiert med deres alifatiske alkoholrest. Monoesteren av 1,2-etandiol og en av ovennevnte fettsyrer, kan bli anvendt på grunn av at nevnte ester, med generell formel

$$C_nH_{2n+1}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-O-CH_2-CH_2OH$$

har minst en hydroksylgruppe (dvs. hydroksylgruppen lengst til høyre av den strukturelle formelen vist ovenfor) i den delen av esteren avledet fra alifatisk alkohol 1,2-etandiol. Derimot er det å bemerke at diesteren av 1,2-etandiol og en av ovennevnte fettsyrer ikke kan bli anvendt på grunn av at nevnte ester, med generell formel

$$C_nH_{2n+1}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-O-CH_2-CH_2O-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-C_nH_{n+1}$$

ikke har minst en hydroksylgruppe i den delen av esteren avledet fra 1,2-etandiol.

Monoesteren av glyserol og en av de designerte fettsyrene kan bli anvendt ved utførelse av foreliggende oppfinnelse på grunn av at esteren vil ha to hydroksylgrupper assosiert dertil som er avledet fra glyserol. Diesteren av glyserol og en av de designerte fettsyrene kan også bli anvendt på grunn av at den esteren vil ha en hydroksylgruppe assosiert dertil som er avledet fra den alifatiske alkoholglyserolen. Som det fremgår nedenfor har blandinger av glyserolmonolaurat og glyseroldilaurat blitt vist å være nyttige ved utførelse av foreliggende oppfinnelse. Det er til slutt å bemerke at triesteren av glyserol og en av de designerte fettsyrene ikke kan bli anvendt på grunn av at esteren ikke har minst en hydroksylgruppe i den delen derav som er avledet fra den alifatiske alkoholen, dvs. glyserol.

Foretrukne estere for anvendelse ved utførelse av foreliggende oppfinnelse er glyserylmonolaurat, glyseryldilaurat og blandinger derav.

I henhold til oppfinnelsen inneholder absorberingsproduktet en mengde av ovenfor beskrevet ester som er effektivt når det gjelder hemming av dannelsen av TSS toksin-1 når nevnte produkt blir utsatt for S. aureus. For eksempel er effektive mengder fra omtrent 0,1% og høyere, og fortrinnsvis minst omtrent 0,5% av spesifisert mono- eller diesterforbindelse (eller blandinger derav), basert på vekten av absorberende materiale omfattende det absorberende produktet. Anvendt heri, betyr betengelsen ("absorberende materiale" naturlige eller syntetiske fibre, filmer, skum, tremasse, torvmose, superabsorberende polymerer o.l. som kan, enten i seg selv eller i kraft av måten som de er oppstilt på, absorbere væsker så som vann, urin, menstruasjonsvæsker, blod, såreksudater o.l.

Generell prosedyre for fremstilling av tamponger ifølge oppfinnelsen.

I løpet av forløpet for utførelse av undersøkelsene som danner grunnlaget for oppfinnelsene heri, ble varierende mengder av ovennevnte esterforbidnelser (eller blandinger derav) tilsatt til flere forskjellige typer tamponger. Disse tampongene inkluderte de som ble fremstilt i laboratorier til oppfinnerne heri samt kommersielt tilgjengelige tamponger fremstilt fra flere forskjellige produsenter. Tamponger fra en produsent hadde forskjellig vekt i forhold til de fra en annen produsent og ikke to tamponger fra en gitt produsent hadde identisk vekt. Esterforbindelsene som ble undersøkt ble løst opp i isopropylalkohol for å danne oppløsninger som dermed ble jevnt applisert ved pipettering, til de ytre overflatene av forskjellige tamponger, hvorpå isopropylalkohol ble avdampet for å tilveiebringe en tampong omfattende esterforbindelsen.

For å forsikre at den absorberende kapasiteten til tampongene ikke ble overskredet, ble det bestemt å fiksere mengden av isopropylalkoholoppløsning påført på hver tampong til fire (4) gram i alle tilfellene. I lys av dette ønsket om å holde konstant vekt av isopropylalkoholoppløsning applisert til hver tampong, var det nødvendig å variere konsentrasjonen av esterforbindelsen i isopropylalkoholoppløsningen for å variere nivået av valgte esterforbindelser i tampongen. Følgende generelle prosedyrer ble dermed anvendt for å applisere et gitt estermateriale til en tampong.

Tamponger ble merket for identifikasjon og veid til nærmeste en tiendedel av et gram. Mengden av ester som var nødvendig for å tilveiebringe den ønskede konsentrasjonen i den behandlede tampongen ble deretter beregnet. Oppløsninger av esteren i isopropylalkohol med reagenskvalitet ble preparert i konsentrasjoner slik at fire (4) gram av oppløsningen inneholdt mengden av ester som blir inkludert i tampongen som

skal bli tetet. På denne måten kunne mengden av ester i en gitt tampong bli variert, mens totalvekten av ester/isopropylalkoholoppløsningen anvendt for å preparere hver individuelle tampong ble holdt konstant på fire (4) gram. Dersom for eksempel ubehandlet tampong veide 2,6 gram, var 0,26 av esteren nødvendig for å tilveiebringe en tampong omfattende 10% av esteren basert på vekten av ubehandlet tampong (dvs. 2,6 gram tampongvekt x 0,10 = 0,26 gram ester). I dette tilfellet ble seks og et halvt (6,5) gram ester løst opp i nittitre og et halvt (93,5) gram isopropylalkohol med reagenskvalitet for å tilveiebringe en oppløsning inneholdende seks og et halvt (6,5%) vekt-% ester. Fire (4) gram av denne oppløsningen inneholdt de nødvendige 0,26 gram ester. Som et annet eksempel, dersom ubehandlet tampong veide 2,8 gram, og det var ønsket at konsentrasjonen av esteren var en % (1%) basert på vekten av ubehandlet tampong, ble en oppløsning inneholdende 0,79 gram ester og 99,3 gram isopropylalkohol preparert. Fire gram av denne oppløsningen inneholdt da de nødvendige 0,028 gram ester.

Som tredje eksempel, dersom ubehandlet tampong veide 2,5 gram, og det var ønsket at konsentrasjonen av ester var 0,1% basert på vekten av ubehandlet tampong, ble en oppløsning inneholdende 0,625 vekt-% ester i isopropylalkohol preparert. Fire (4) gram av denne oppløsningen inneholdt de nødvendige 0,0025 gram av esteren.

Alle oppløsninger av esterforbindelsen i isopropylalkohol ble grundig omrørt for å forsikre jevnhet. I tillegg, spesielt ved høyere konsentrasjoner, kunne hastigheten av oppløsning av esteren bli øket ved oppvarming av ingrediensene til omtrent 60°C, f.eks. i et varmet vannbad.

Når tamponmgen var blitt veiet og hensiktsmessig oppløsning av ester i isopropylalkol med reagenskvalitet var blitt preparert som beskrevet ovenfor, ble fire (4) gram ester/-isopropylalkoholoppløsning ved romtemperatur) jevnlig

applisert ved pipettering, til de ytre overflatene av tampongen. Tamponger blir rotert i løpet av anvendelsen av esteroppløsningen for å forsikre så jevn applikasjon som mulig. Isopropylalkohol ble deretter avdampet ved 70°C i en tørkeovn med hette for å tilveiebringe en tampong omfattende ønsket nivå av esterforbindelse.

Den foregående prosedyren ble anvendt for å preparere alle de esterinneholdende tampongene nevnt i eksemplene heri.

Beskrivelse av foretrukne beskrivelsesformer

I eksempel 1 nedenfor vil oppfinnelsen bli beskrevet i detalj i sammenheng med en menstruasjonstampong omfattende et absorberende materiale, et væskegjennomtrengelig dekkende stoff, og en mengde av en blanding av glyserolmonolaurat og glyseroldilaurat som er effektiv til å hemme produksjonen av toksisk sjokksyndrom toksin-1 ved S. aureus bakterier når nevnte bakterier blir bragt i kontakt med tampongen. Det er å bemerke at prinsippene ifølge oppfinnelsen vedrører også andre absorberende produkter så som sårbelegg, engangsbleier, sanitetsbind og andre typer tamponger som slike for medisinsk, kirurgisk, odontologisk og/eller nasal anvendelse.

Menstruasjonstamponger omfattende rayonfibre som absorberende materiale ble preparert som følger. Rayonfibrene som ble anvendt var 3-denier, viskoserayon staplefibre med en lengde på 2,86 cm og 4,3-9,8 krympinger pr. cm. Fibrene var 100% viskoserayon, dvs. de var vesentlig fri for behandlingsstoffer og tilsetningsstoffer, så som overflateaktive midler o.l., vanligvis anvendt ved kommersiell produksjon.

Ved anvendelse av kommersielt tilgjengelig kardeutstyr ble ovennevnte rayonfibre kardet til et fibrøst nett med vekt på omtrent 33,6 gram/m^2. Det kardede nettet av rayonfibre ble samlet til et rørformet bånd med en diameter på omtrent 2,54

cm. Dette rørformede båndet ble deretter dekket i et ikke-vevet stoff fremstilt fra varmesmeltbare fibre og med vekt på omtrent 7,08 g/m^2. Kantene til det varmesmeltbare ikke-vevede stoffet ble delvis overlappet, og deretter varmebehandlet for å danne en forsegling. Det belagte båndet av rayonfibre ble kuttet til emner (blanks). Et hvitt rayonbånd ble stukket inn og sendt igjennom hvert emne. Emnet ble deretter komprimert på kjent måte for å tilveiebringe en forsøkstampong med diameter på 1,2 cm, lengde 4,45 cm og vekt på omtrent 2,6 gram. Den hengende delen av uttrekningstråden ble kuttet fra tampongen før testing.

En blanding av glyserolmonolaurat og glyseroldilaurat, kommersielt tilgjengelig under varemerket "Lauricidin", ble tilveiebragt fra Lauricidin, Inc. beliggende i East Lansin, Michigan, USA. Denne blandingen som nedenfor blir betegnet "Lauricidin" ble analysert å funnet å inneholde 93 vekt-% glyserol monolaurat og 3,5 vekt-% glyseroldilaurat. det er kjent at Lauricidin har antimikrobielle egenskaper og er ikke-toksisk for mennesker. Den er blitt foreslått for anvendelse i antihullprodukter, insekticider, kosmetiske prepareringer og matsammensetninger.

EKSEMPEL 1

Tamponger omfattende, respektivt, 0,1 vekt-%, 1,0 vekt-% og 10 vekt-% av ovennevnte Lauricidinblanding basert på vekten av ubehandlet tampong, ble preparert ved anvendelse av ovennevnte testtamponger. Lauricidinblandingen ble påført testtampongene ifølge den generelle prosedyren for preparering av tamponger ifølge oppfinnelsen beskrevet ovenfor. Lauricidin-inneholdende tamponger ble preparert i duplikat. Lauricidin-behandlede tamponger ble deretter testet ifølge "Tampon-Sac"-metoden rapportert av Reiser et al. i the Journal of Clinical Microbiology, Vol. 25, august 1987, s. 1450-1452, og beskrivelsen er inkorporert heri som referanse. Staphylococcus aureus-stamme FRI-1169, tileiebragt i

lyofiliert form fra dr. Merlin Bergdoll, Food Research Institute, University of Wisconsin, i Madison, Wisconsin, USA, ble anvendt i testene. En S. aureus suspensjon ble preparert ved grundig blanding av en (1) milligram lyofilisert S. aureus-stamme til en (1) ml hjerne-hjerte-infusjon (BHI) kraft (tilveiebragt fra Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA, overføring av nevnte blanding inn i et reagensrør inneholdende fem (5) ml BHI-kraft, påny grundig blanding og inkubering i 24 timer ved 37°C før bruk.

100 ml hjerne-hjerte-infusjon (BHI) agar (også tilveiebragt fra Difco Laboratories i Detroit, Michigan, USA) ble hver kuttet til 3,8 cm x 20 cm kulturrør. Cellulosesekker ble tilveiebragt og sterilisert som angitt av Reiser et al. De sterile cellulosekkene ble inokulert med ovennevnte S. aureus-suspensjon i en mengde som er tilstrekkelig for å tilveiebringe ved begynnelsen av forsøket en konsentrasjon deri på 1 x 10^8 CFU/ml Staphylococcus aureus-bakterier.

Hver Lauricidin-behandlet tampong som ble undersøkt ble lagt inn i en steril cellulosesekk inneholdende S. aureus-bakterier, og hver sekk ble deretter lagt inn i et kulturrør inneholdende BHI-agar. To kontroller, hver i duplikat, ble anvendt. I en kontroll (betegnet "inoculum controll") ble en inokulert sekk (uten tampong) plassert i hver av to kulturrør inneholdende BHI-agar. I den andre kontrollen ble to ubehandlede tamponger (dvs. tamponger fremstilt som beskrevet men uten Lauricidin i isopropylalkohol) ble plassert i cellulosesekker som igjen ble plassert i kulturrør inneholdende BHI-agar. Ti kulturer ble derfor anvendt i dette forsøket, fire inneholdende ovennevnte kontroller (to med tamponger; to uten tamponger) og de andre inneholdende ovennevnte Lauricidin-behandlede testtamponger i duplikat.

Konsentrasjonene til S. aureus-stamme FRI-1169 og toksisk sjokksyndrom toksin-1 ved begynnelsen av forsøket (0 timer) og etter inkubasjon i 24 timer ved 37°C er vist i tabell 1.

TABELL 1

VIRKNINGEN AV LAURICIDINBEHANDLEDE TAMPONGER PÅ TSST-1-DANNELSE AV OG VEKST AV STAPHYLOCOCCUS AUREUS

PRØVE	OPPRINELIG KONSENTRASJON AV S.AUREUS-CELLER (CFU/ml) (10^8)	OPPRINNELIG KONSENTRASJON AV TSST-1[a)] (ng/ml)	OPPRINNELIG KONSENTRASJON AV S.AUREUS-CELLER (CFU/ml) (10^8)	FINAL KONSENTRASJON AV S.AUREUS-CELLER[b)] (/ml)	FINAL KONSENTRASJON AV TSST-1[a] mg/ml
Uten tampong (kontroll)	1,0	ND	100	10,0	50
Ubehandlet tampong (kontroll)	1,0	ND	100	10,0	31
Tampong v/0,1% Lauricidin	1,0	ND	794	10,9	15
Tampong v/1,0% Lauricidin	1,0	ND	158	10,2	0,9
Tampong v/10,0% Lauricidin	1,0	ND	316	10,5	0,08

ND = IKKE PÅVIST. Påvisningsgrensen til ELISA-metoden til Reiser et al. er 0,5 ng/ml.

a) = Som bestemt ved ELISA-metoden rapportert av Reiser et al. i Applied and Environmetal Microbiology, desember 1982, s. 1349-1355, beskrivelsen er inkorporert heri som referanse.

b) = Uttrykt som log til base 10.

Alle data ovenfor er gjennomsnittlige bestemmelser av duplikatprøver.

Data i tabell 1 viser at S. aureus-bakterier i nærvær av en tampong inneholdende 0,1% /v/v) Lauricidin produserte 51% mindre toksisk sjokksyndrom toksin 1 (TSST-1) enn når utsatt for en kontrolltampong som ikke innholder Lauricidin, til tross for det faktum at det ikke var noen reduksjon i det virkelige antallet levedyktige S. aureus-celler i nærvær av Lauricidin-behandlet tampong. Dataene viser videre at S. aureus-bakterier i nærvær av tamponger omfattende 1,0% (v/v) og 10,0% (v/v) Lauricidin produserte 99% mindre TSST-1 enn det samme antallet S. aureus-celler i nærvær av en kontroll-tampong som ikke inneholder Lauricidin, igjen til tross for det faktum at det ikke varnoen reduksjon i antallet levedyktige S. aureus-celler i nærvær av Lauricidin-inneholdende tamponger. Dataene viser at til tross for at antallet levedyktige S. aureus-celler ikke blir redusert når cellene er utsatt for tamponger inneholdende forskjellige nivåer Lauricidin, blir den virkelige mengden TSST-1 redusert fra disse cellene betraktelig redusert (som i tilfelle med tamponger behandlet med 0,1% Lauricidin) eller vesentlig eliminert som i tilfelle av tamponger behandlet med 1,0% og 10% Lauricidin. Med andre ord, Lauricidin reduserer ikke antall levedyktige S-aureus-bakterievceller i betraktelig grad, men hemmer produksjonen av toksisk sjokksyndrom toksin-1 ved disse cellene.

Det antas derfor at in vivo anvendelse av Lauricidin-behandlede tamponger i menstruerende kvinner er fordelaktig på grunn av at produksjonen av TSST-1 ved S. aureus-bakterier som vanligvis er tilstede i vagina vil bli betraktelig redusert. I tillegg, i preliminære studier utført ved anvendelse av mikroorganismen som er overvektig tilstede i vagina, dvs. Lactobacillus acidophilus, ble det funnet at nevnte mikroorganisme ikke ble negativt påvirket når den ble bragt i kontakt med en tampong ifølge eksempel 1 omfattende 1,0% (v/v) Lauricidin.

EKSEMPEL 2

Et annet eksperiment ble utført for å vurdere veksten av, og TSST-1-produksjon av, S. aureus-celler i nærvær av kommersielt tilgjengelige tamponger behandlet med varierende mengder Laauricidin. Tampax*-merket tamponger for menstruasjon (vanlig størrelse, nr. 8L015Z) som var blitt forhandlet på det åpne markedet, ble anvendt i dette eksemplet. Disse tampongene ble forhandlet av Tambrands, Inc., Lake Success, New York, USA. Tampax*-tampongene omfattet en bomullsabsorberende kjerne, et belegg av rayonstoff og en uttrekkstråd. Uttrekkstrådene til tampongene ble kuttet fra tampongene før testing. Tamponger omfattende 0,1%, 1,0% og 10% Lauricidin basert på vekten av ubehandlede tamponger, ble fremstilt i duplikat ifølge ovennevnte generelle prosedyre. To Tampax*-tamponger (med kuttede tråder), behandlet med isopropylalkohol uten Lauricidin og deretter tørket, ble anvendt som en kontroll. De tørkede Lauricidin-behandlede tampongene og kontrolltampongene, ble testet ifølge prosedyren og betingelsene angitt i eksempel 1. Testresultatene er angitt i tabell 2.

TABELL 2
VIRKNINGEN AV LAURICIDINBEHANDLEDE TAMPAX-TAMPONGER (NR. 8L015Z) PÅ TSST-1-DANNELSEN AV STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FRI-1169)

PRØVE	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER[b)]	FINAL KONSENTRASJON AV TSST-1[a)]
	(CFU/ml)	(/ml)	(mg/ml)
0% Lauricidin tampong (kontroll)	5.248	11,72	27,50
0,1% Lauricidin på tampong	199	10,30	3,70
1,0% Lauricidin på tampong	251	10,40	1,05
10,0% Lauricidin på tampong	2,13	8,33	0,19

a) = Som bestemt ved ELISA-metoden (Reiser et al.).

b) = Uttrykt som log til base 10.

Alle prøvebestemmelsene ble utført etter 24 timers inkubasjon ved 37°C.

Alle data ovenfor er gjennomsnittlige bestemmelser av duplikatprøver.

Data i tabell 2 viser at S. aureus-bakterier i nærvær av Tampax*-merket tamponger behandlet med varierende mengder Lauricidin, produserte mindre TSST-1 enn når de var utsatt for kontrolltamponger som ikke inneholder Lauricidin, idet utstrekningen av reduksjonen i toksinproduksjon er relatert til mengden av Lauricidin i tampongene. Tampax*-tamponger behandlet med 0,1 vekt-% Lauricidin resulterte i en 86%-ig reduksjon i TSST-1-produsert sammenlignet med kontrollen, mens Tampax*-tamponger behandlet med 1-10 vekt-% Lauricidin resulterte i, respektivt, en 96% og 99% reduksjon. Resultatene med Tampax*-merkede tamponger viser også en reduksjon i det totale antallet S. aureus-celler; idet denne virkninger er avhengig av konsentrasjonen av Lauricidin i tampongen. Ved slutten av inkubasjonsperioden på 24 timer, var log-konsentrasjonen av S. aureus-celler i nærvær av kontrolltampongen 11,72; log-konentrasjonen av S. aureus-celler i nærvær av tampongen inneholdende 0,1 Lauricidin var 10,30 (12% mindre); log-konsentrasjonen til S. aureus-celler i nærvær av tampongen inneholdende 1,0% Lauricidin var 10,40 (11% mindre); og log-konsentrasjonen til S. aureus-celler i nærvær av tampongen inneholdende 10% Lauricidin var 8,33 (29% mindre).

EKSEMPEL 3

Et tredje eksperiment ble utført for å vurdere veksten av og TSST-1-produksjon av S. aureus-celler i nærvær av kommersielt tilgjengelige tamponger behandlet med varierende mengder Lauricidin. Playtex*-merket menstruasjonstamponger (vanlig størrelse, nr. 3496P) som var blitt forhandlet på det åpne marked, ble anvendt i eksperimentet i dette eksemplet. Disse tampongene ble forhandlet av International Playtex Inc., Dover, Delaware, USA. Playtex-tampongene ble fremstilt fra fullstendig rayonfibre og hadde en uttrekningstråd, men ikke noe dekkende stoff. Tråden for fjerning av tampongen ble kuttet fra tampongene før testing. Behandlede tamponger omfattende 0,1%, 1,0% og 10% Lauricidin basert på vekten av

ubehandlet tampong, ble preparert i duplikat ifølge ovennevnte generelle prosedyre. To Playtex-tamponger (uten tråder) uten Lauricidin-behandling, ble anvendt som en kontroll. Tørkede Lauricidinbehandlede tamponger og ubehandlede kontroller ble deretter testet ifølge prosedyren og betingelsene beskrevet i eksempel 1. Testresultatene er angitt i tabell 3.

TABELL 3

VIRKNINGEN AV LAURICIDINBEHANDLEDE PLAYTEX-TAMPONGER (NR. 3496p) PÅ TSST-1-DANNELSEN VED STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FRI-1169)

PRØVE	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER[b)]	FINAL KONSENTRASJON AV TEST-1[a)]
	(CFU/ml)	(/ml)	(mg/ml)
0% Lauricidin tampong (kontroll)	3.388	11,53	10,86
0,1% Lauricidin på tampong	213	10,33	2,69
1,0% Lauricidin på tampong	131	10,12	0,38
10,0% Lauricidin på tampong	3,23	8,51	0,29

a) = Som bestemt ved ELISA-metoden (Reiser et al.)

b) = Uttrykt som log til base 10.

Alle prøvebestemmelsene ble utført etter inkubasjon i 24 timer ved 37°C.

Alle dataene ovenfor er gjennomsnittlige bestemmelser av duplikatprøver.

Data angitt i tabell 3 viser at mengden av TSST-1 produsert av S. ureus-bakterier i nærvær av Playtex*-tamponger behandlet med 0,1%, 1,0% og 10,0% Lauricidin ble redusert 75%, 96% og 97%, respektivt, når sammenlignet med mengden av TSST-1 produsert i nærvær av en kontrolltampong som ikke inneholder Lauricidin. Derimot, sammenlignet med kontrollverdiene, resulterte Playtex*-tamponger behandlet med 0,1%, 1,0% og 10,0% Lauricidin i 10%, 12% og 26% fewer S. aureus-celler ved slutten av den 24 timer lange inkubasjonsperioden.

EKSEMPEL 4

Et fjerde eksperiment ble utført for å beregne veksten av, og TSST-1-produksjonen av S. aureus-celler i nærvær av et annet merke menstruasjonstamponger behandlet med varierende mengder Lauricidin. Rely*-merket menstruasjonstamponger (vanlig størrelse) nr. 2060LC01A) som var blitt forhandlet før september 1980 på det åpne markedet, ble anvendt i dette eksperimentet. Disse tampongene ble forhandlet av Procter & Gamle, Cincinnati, Ohio, USA. Reley*-tamponger omfattet karboksymetylcellulose dispergert i et polyesterskum som var innesluttet i et ikke-vevet stoff dannet av spinnbundede polyesterfibere. De hadde den vanlige uttrekkstråden. Tråden for fjerning av tampongen ble kuttet fra tampongene før testing. Behandlede tamponger omfattende 0,21%, 1,0% og 10% Lauricidin basert på vekten av ubehandlet tampong, ble preparert i duplikat ifølge ovennevnte generelle prosedyre. To Rely*-tamponger (hvor uttrekningstråden var kuttet av) uten Lauricidin-behandling, ble anvendt som en kontroll. Tørkede Lauricidin-behandlede tamponger og ubehandlede kontrolltamponger ble deretter testet ifølge prosedyren og betingelsene beskrevet i eksempel 1. Testresultatene er angitt i tabell 4.

TABELL 4

VIRKNINGEN AV LAURICIDINBEHANDLEDE RELY-TAMPONGER (NR. 2060LC01A) PÅ TSST-1-DANNELSEN VED STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FRI-1169)

PRØVE	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER[b)]	FINAL KONSENTRASJON AV TSST-1[a)]
	(CFU/ml)	(/ml)	(mg/ml)
0% Lauricidin tampong (kontroll)	12.303	12,09	64,32
0,1% Lauricidin på tampong	2.818	11,45	6,92
1,0% Lauricidin på tampong	1.995	11,30	1,54
10,0% Lauricidin på tampong	1.096	11,04	0,09

a) = Som bestemt ved ELISA-metoden (Reiser et al.)

b) = Uttrykt som log til base 10.

Alle prøvebestemmelsene ble utført etter inkubasjon i 24 timer ved 37°C.

Alle dataene ovenfor er gjennomsnittlige bestemmelser av duplikatprøver.

Data angitt i tabell 4 viser at mengden av TSST-1 produsert av S. aureus-bakterier i nærvær av Rely*-tamponger behandlet med 0,1%, 1,0% og 10,0% Lauricidin ble redusert med 89%, 97% og 99%, respektivt, sammenlignet med mengden TSST-1 produsert i nærvær av en kontrolltampong som ikke inneholder Lauricidin. Mens i slutten av inkubasjonsperioden på 24, var den totale S. aureus-cellekonsentrasjonen (uttrykt som log til base 10) i nærvær av kontrolltampongen 12,09, den totale S. aureus-cellekonsentrasjonen (uttrykt som log til base 10) i nærvær av Rely*-tampongen behandlet med 0,1%, 1,0% og 10% Lauricidin var, respektivt, 11,45 /5,3% mindre), 11,20 (7,4% mindre) og 11,04 (7,8% mindre).

EKSEMPEL 5

Et femte eksperiment ble utført for å vurdere veksten av, og TSST-1-produksjonen av S. aureus-celler i nærvær av kommersielt tilgjengelige tamponger, behandlet med varierende mengder Lauricidin. O.b.*-merket menstruasjonstamponger (vanlig størrelse, nr. 0694T) som ble forhandlet på det åpne marked, ble anvendt i dette eksperimentet. Disse tampongene var distribuert av Personal Products Company, Milltown, NJ, USA. O.b.*-tampongene omfatter en blanding av rayon og bomull. De har en uttrekningstråd, men har ikke et ytre dekklag. Uttrekningstrådene til tampongene ble kuttet fra tampongene før testing. Undersøkte tamponger omfattende 0,1%, 1,0% og 10% Lauricidin basert på vekten av ubehandlede tamponger ble preparert i duplikat ifølge den generelle prosedyren beskrevet ovenfor. To o.b.*-tamponger (hvor trådene er kuttet) uten Lauricidin-behandling, ble anvendt som en kontroll. Tørkede Lauricidin-behandlede tamponger og ubehandlede kontrolltamponger ble deretter undersøkt ifølge prosedyren og betingelsene beskrevet i eksempel 1. Testresultatene er angitt i tabell 5.

TABELL 5

VIRKNINGEN AV LAURICIDINBEHANDLEDE O.B.*-TAMPONGER (NR. 0694t) PÅ TSST-1-DANNELSEN AV STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FRI-1169)

PRØVE	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER[b)]	FINAL KONSENTRASJON AV TSST-1[a)]
	(CFU/ml)	(/ml)	(mg/ml)
0% Lauricidin tampong (kontroll)	3.388	11,53	13,46
0,1% Lauricidin på tampong	158	10,20	3,26
1,0% Lauricidin på tampong	316	10,50	0,28
10,0% Lauricidin på tampong	95	9,98	0,19

a) = Som bestemt ved ELISA-metoden (Reiser et al.)

b) = Uttrykt som log til base 10.

Alle prøvebestemmelsene ble utført etter inkubasjon i 24 timer ved 37°C.

Alle dataene ovenfor er gjennomsnittlige bestemmelser av duplikatprøver.

Data presentert i tabell 5 viser at mengden av TSST-1 produsert av S.aureus-bakterier i nærvær av o.b.*-tamponger, omfatter 0,1 vekt-%, 1,0 vekt-% og 10 vekt-% Lauricidin ble redusert med 75%, 98% og 98%, respektivt, når sammenlignet med mengden til TSST-1 produsert i nærvær av en kontroll o.b.*-tampong som ikke inneholder Lauricidin. Den totale S.aureus-cellekonsentrasjonen (uttrykt som log til base 10) i nærvær av kontrolltampongen, var 11,53. Total S. aureus-konsentrasjon (uttrykt som log til base 10) i nærvær av o.b.*-tampongen behandlet med 0,1 vekt-%, 1,0 vekt-% og 10 vekt-% Lauricidin var, respektivt, 10,20 (11% mindre), 10,50 (8,9% mindre) og 9,98 (13% mindre).

EKSEMPEL 6

Et sjette eksperiment ble utført for å vurdere veksten av, og TSST-1-produksjonen av S. aureus-celler i nævær av kommersielt tilgjengelige tamponger behandlet med varierende mengder Lauricidin. Kotex* Security*-merket menstruasjonstamponger (vanlig størrelse nr. 5C0907C) som var blitt forhandlet på det åpne markedet, ble anvendt i dette eksperimentet. Disse tampongene ble forhandlet av Kimberly-Clark Corporation, Neenah, Wisconsin, USA. De omfatter en blanding av 60% bomull og 40% rayon, hadde vanlig uttrekningstråd og ble dekket med et ikke-vevet stoff fremstilt fra polypropylenfibre. Tråden for uttrekning av tampongen ble kuttet fra tampongene før testing. Behandlede tamponger omfattende 0,1%, 1,0% og 10% Lauricidin basert på vekten av ubehandlet tampong, ble fremstilt i henhold til ovennevnte generelle prosedyre. To Kotex* Security-tamponger (uten uttrekkstråd) uten Lauricidin-behandling, ble anvendt som kontroller. Tørket Lauricidin-behandlede tamponger og ubehandlede kontrolltamponger ble deretter undersøkt ifølge prosedyren og betingelsene beskrevet i eksempel 1. Testresultater er angitt i tabell 6.

TABELL 6

VIRKNINGEN AV LAURICIDINBEHANDLET KOTEX SECURITY TAMPONGER, NR. 5C0907C PÅ TSST-1-DANNELSEN AV STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FRI-1169)

PRØVE	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER[b]	FINAL KONSENTRASJON AV TSST-1[a]
	(CFU/ml) (10^8)	(/ml)	(mg/ml)
0% Lauricidin tampong (kontroll)	1.698	11,23	10,19
0,1% Lauricidin på tampong	194	10,29	4,90
1,0% Lauricidin på tampong	426	10,63	0,09
10,0% Lauricidin på tampong	426	10,63	0,05

a) = Som bestemt ved ELISA-metoden (Reiser et al.)

b) = Uttrykt som log til base 10.

Alle prøvebestemmelsene ble utført etter inkubasjon i 24 timer ved 37°C.

Alle dataene ovenfor er gjennomsnittlige bestemmelser av duplikatprøver.

Data presentert i tabell 6, viser at mengden av TSST-1 produsert av S. aureus-bakterier i nærvær av Kotex*-tamponger omfattende 0,1 vekt-%, 1,0 vekt-% og 10 vekt-% Lauricidin ble redusert med 52%, 99% og 99%, respektivt, når sammenlignet med mengden av TSST-1 produsert under samme eksperimentelle betingelser i nærvær av en kontroll-Kotex*-tampong som ikke inneholder Lauricidin. Den totale konsentrasjonen av S. aureus-celler (uttrykt som log til base 10) i nærvær av Kotekx*-tamponger inneholdende 0,1 vekt-%, 1,0 vekt-% og 10 vekt-% Lauricidin var, respektivt 10,29 (94% mindre) 10,63 (60% mindre) og 10,63 (60% mindre).

Som det fremgår av eksemplene 1-6, ble forskjellige tamponger, en som var blitt fremstilt av oppfinnerne (eksempel 1), andre som var kommersielt tilgjengelige (eksemplene 2, 3, 5 og 6) og en som hadde vært kommersielt tilgjengelig men som senere var blitt trukket fra kommersiell distribusjon (eksempel 4), er blitt behandlet med varierende nivåer Lauricidin, en kommersiell tilgjengelig blanding omfattende 93 vekt-% glyserolmonolaurat og 3,5 vekt-% glyseroldilaurat. Data angitt i tabellene 1-6 viser at, avhengig av nivåene av Lauricidin i tamponger, S. aureus-bakterier produserte betraktelig mindre TSST-1 eller, med andre ord, er hemmet fra produsering av betraktelige mengder TSST-1 sammenlignet med mengdene av TSST-1 produsert under samme eksperimentelle betingelser av S. aureus-bakterier i nærvær av kontrolltamponger som ikke inneholder Lauricidin.

EKSEMPEL 7

Testtamponger av samme type som anvendt i eksempel I ble anvendt i dette eksemplet. Testtamponger omfattende 0,1%, 0,5% og 1,0% Lauricidin basert på vekten av ubehandlede testtamponger, ble preparert ifølge den generelle prosedyren beskrevet tidligere og ble testet ifølge "Tampon-Sac"-metoden beskrevet i eksempel 1. I dette eksempel 7 derimot, ble tampongsekker inokulert med forskjellige stammer av S.

aureus-bakterier før innførsel av Lauricidin-behandlede tamponger. De respektive stammene av S. aureus som ble testet, er identifisert i tabell 7. Konsentrasjonen av S. aureus ved begynnelsen av eksperimentet var $1x10^8$ CFU/ml. TSST-1-produserende S. aureus-stamme FRI-1169 anvendt i dette eksemplet var tilveiebragt fra Merlin Bergdoll, Ph. D., Food Research Institute, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA. TSST-1-produserende S. aureus-stamme betegnet 1169W ble tilveiebragt fra Fred Quimby, V.M.D., Ph.D., Cornell Medical School, New York, New York, USA. En tredje S. aureus-stamme (spesifikt en understamme av FRI-1169) ble isolert fra foreldrestammen og betegnet TSS-isolat. Dette TSS-isolatet kan bli tilveiebragt i en lyofilisert tilstand fra S.K. Brown-Skrobot, Ph.D., Personal Products Company, Milltown, New Jersey, USA. En fjerde TSST-1-produserende S. aureus-stamme betegnet Mn8, ble tilveiebragt fra Patrick Schlievert, Ph.D., University of Minnesota, Minneapolis-St. Paul, Minnesota, USA. En femte TSST-1-produserende S. aureus-stamme betegnet 1187 ble tilveiebragt fra Keith T. Holland, Th.D., University of Leeds, Leeds, England. Alle S. aureus-stammene testet i dette eksemplet kan bli tilveiebragt fra ovennevnte individer.

Suspensjoner av forskjellige stammer ble preparert som beskrevet i eksempel I og anvendt for å inokulere sekkene før innsetting av tampongene som da ble testet ifølge "Tampon sac"-metoden beskrevet i eksempel 1. Duplikat-test-tamponger uten Lauricidin ble anvendt som kontroller. Testresultatene er angitt i tabell 7.

Resultatene vist i tabell 7 viser en reduksjon av TSST-1-dannelsen med økende konsentrasjon Lauricidin. Dette ble bemerket i alle fem stammene som ble testet. Det ble konkludert fra testresultatene at de fordelaktige virkningene av Lauricidin observert i eksemplene 1-6, ikke var spesifikke for noen bestemt TSST-1-produserende S. aureus-stamme.

TABELL 7

VIRKNINGEN AV LAURICIDIN-BEHANDLEDE TAMPONGER PÅ VEKSTEN AV OG TSST-1-PRODUKSJONEN AV FORSKJELLIGE STAMMER AV S. AUREUS

TSST-1 PRODUSERENDE STAMME	KONSENTRASJON AV LAURICIDIN[a)]	TOTAL MENGDE TSST-1 PRODUSERT[b)]
	(%)	(µg)
1169W	INGEN	56,54
(Quimby Strain)	0,1	17,54
	0,5	0,35
	0,1	0,07
FRI-1169	INGEN	48,75
(Bergdoll Strain)	0,1	5,06
	0,5	0,04
	1,0	0,03
TSS-isolat	INGEN	53,04
(Understamme av	0,1	5,25
FRI-1169)	0,5	1,27
	1,0	0,48
Mn8	INGEN	66,30
(Schlievert-	0,1	0,66
stamme)	0,5	0,12
	1,0	0,05
1187	INGEN	46,80
(Holland-stamme)	0,1	6,63
	0,5	0,92
	1,0	0,58

a) = basert på vekten av ubehandlet tampong.

b) = totalt TSST-1 pr. tampong etter 25 timers inkubasjon ved 37°C.

Alle prøvene ble testet for totalt TSST-1 produsert ved anvendelse av ELISA-metoden (Reiser et al.).

EKSEMPEL 8

I dette eksemplet ble tamponger omfattende forskjellige fettsyreestere testet for å bestemme deres virkning på veksten av og TSST1-dannelsen av S. aureus-bakterier (FRI-1169). Testtampongene av den typen som ble anvendt i eksempel 1 ble anvendt i dette eksemplet. Alle testtampongene veide 2,6 gram. 0,65 gram av hver fettsyreester som skulle bli testet ble løst opp i 99,35 gram reagenskvalitet eller esterblanding isopropylalkohol. Fire (4) gram av hver fettsyreesteroppløsning ble applisert på de ytre overflatene til hver av to testtamponger for å tilveiebringe behandlede tamponger omfattende 1 vekt-% av ester, eller esterblandingen, basert på vekten av ubehandlet testtampong. Alkohol ble fjernet ved avdampning ved 70°C, hvorpå de behandlede tampongene ble testet ifølge "Tampon Sac"-metoden beskrevet i eksempel 1. Nedenfor er en liste fettsyreestere som ble evaluert:

Tampong nr. 1 - En blanding av glyserylmonokaprylat og glyserylkaprat. Kaprylsyre er en mettet fettsyre inneholdende 8 karbonatomer. Kapronsyre er en mettet fettsyre inneholdende 10 karbonatomer. Blandingen inneholdt omtrent 38,3 vekt-% kaprylatester, omtrent 36,9 vekt-% kapratester og omtrent 0,6% fri glyserin. Gjenværende av denne blandingen inneholdt mindre mengder di- og triestere av to fettsyrer.

Tampong nr. 2 - Glyserylmonolaurat med 90-95% renhet og inneholdende 0,2% fri glyserin og mindre mengder di- og triestere. Laurinsyre er en mettet fettsyre inneholdende 12 karbonatomer.

Tampong nr. 3 - Glyserylmonomyristat med 90-95% renhet og inneholdende omtrent 0,2% fri glyserin og mindre mengder di- og triestere. Myristinsyre er en mettet fettsyre inneholdende 14 karbonatomer.

Tampong nr. 4 - Glyserylmonopalmitat med 90-95% renhet og inneholdende 0,2% fri glyserin og mindre mengder di- og triestere. Palmitinsyre er en mettet fettsyre inneholdende 16 karbonatomer.

Tampong nr. 5 - Glyserylmonostearat med 90-95 % renhet og inneholdende 0,2% fri glyserin og mindre mengder di- og triestere. Stearinsyre er en mettet fettsyre inneholdende 18 karbonatomer.

Tampong nr. 6 - Glyseryl monooleat med 90-95% renhet og inneholdende 0,2% fri glyserin og mindre mengder di- og triestere. Oleinsyre er en umetet fettsyre inneholdende 18 karbonatomer og en dobbeltbinding.

I dette eksemplet ble to ubehandlede tamponger anvendt som kontroller.

Resultatene av testene er vist i tabell 8. Data viser at det var en markert reduksjon i mengden av TSST-1 produsert av S. aureus-stamme FRI-1169 i nærvær av tamponger behandlet med

forskjellige fettsyreestere sammenlignet med mengden av TSST-1 produsert i nærvær av ubehandlede kontrolltamponger. Reduksjonen i mengden TSST-1 produsert varierte fra omtrent 90% til 99%, unntatt i det tilfellet hvor tampongen inneholdt glyserylmonostearat. 60% reduksjon i TSST-1 produksjon observert når tampongen inneholdt glyserinmonostearat, men ikke så høy som det som ble oppnådd med tamponger inneholdende andre estere, var til tross for dette meget vesentlig, og ansees som signifikant. Ikke noe tilsvarende reduksjonsmøsnter i antall levedyktige S. aureus-celler ble observert. Det er derimot å bemerke at ved slutten av inkubasjonsperioden på 24 timer var det færre levedyktige S. aureus-celler på behandlede tamponger enn på tamponger uten esterbehandling.

TABELL 8

VIRKNING AV FORSKJELLIGE GLYSERYLESTERFORBINDELSER PÅ VEKSTEN AV OG TSST-1-DANNELSEN AV STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FRI-1169)

PRØVE	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER[b)]	TOTAL MENGDE TSST-1-PRODUSERT[a)]	REDUKSJON I TSST-1 DANNELSE
	(CFU/ml)	(/ml)	(mg)	(%)
Kontroll-tampong	$4,20 \times 10^9$	9,62	17,15	-
Tampong nr.1	$5,80 \times 10^6$	6,76	0,18	98,9
Tampong nr.2	$6,56 \times 10^6$	6,81	0,14	99,1
Tampong nr.3	$5,04 \times 10^8$	8,83	0,58	96,5
Tampong nr.4	$1,44 \times 10^9$	9,15	1,75	89,7
Tampong nr.5	$6,08 \times 10^8$	8,78	6,43	60,2
Tampong nr.6	$6,86 \times 10^8$	8,83	1,01	94,0

a) = Som bestemt ved ELISA-metoden (Reiser et al.)

b) = Uttrykt som log til base 10.

Alle prøvebestemmelsene ble utført etter inkubasjon i 24 timer ved 37°C.

Alle dataene ovenfor er gjennomsnittlige bestemmelser av duplikatprøver.

EKSEMPEL 9

Blandingen av glyserylmonolaurat og glyseryldilaurat anvendt i eksperimentene angitt i eksemplene 1-7 heri, ble tilveiebragt fra Lauricidin, Inc., under varemerkenavnet Lauricidin. Som angitt tidligere ble denne blandingen analysert og funnet å inneholde 93 vekt-% glyserylmonolaurat og 3,5 vekt-% glyseryldilaurat. Blandinger av diglyseryl-estere av laurinsyre ble oppnådd fra to andre kilder. En slik blanding ble tilveiebragt fra Stephan Chemical Company, Maywood, New Jersey, USA, under varemerket Kessco. Denne blandingen ble analysert og funnet å inneholde 50 vekt-% glyseryl monolaurat, og 37 vekt-% glyseryldilaurat. En annen slik blanding ble tilveiebragt fra Henkel Corporation under navnet Monomuls 90-L12 og funnet å inneholde 96 vekt-% glyserylmonolaurat. Glyseryldilaurat ble ikke påvist. Ved anvendelse av ovenfor nevnte generelle prosedyre og samme forsøkstamponger som de som ble anvendt i eksempel 1, ble følgende tamponger preparert i duplikat:

- Tamponger omfattende, respektivt, 0,1%, 0,5% og 1,0% Lauricidin basert på vekten av ubehandlede test-tamponger;

- Tamponger omfattende, respektivt, 0,1%, 0,5% og 1,0% Kessco esterblanding basert på vekten av ubehandlede testtamponger; og

- Tamponger omfattende, respektivt, 0,1%, 0,5% og 1,0% Monomuls 90-L12-blanding basert påv ekten av ubehandlet testtampong.

Tamponger behandlet med isopropylalkohol uten ester ble anvendt som kontroller. Alle prøvene ble preparert og testet i duplikat ifølge "Tampon sac"-metoden beskrevet ovenfor. Testresultatene er angitt i tabell 9.

TABELL 9

VIRKNINGEN AV FORSKJELLIGE GLYSEROLMONOLAURATER VEKSTEN AV OG TSST-1-DANNELSE VED STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FRI-1169)

PRØVE	% PÅ-AV	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER	FINAL KONSENTRASJON AV S. AUREUS-CELLER[b)]	TOTAL MENGDE TSST-1 PRODUSERT[a)]	REDUKSJON I TSST-1-DANNELSE
		(CFU/ml)	(/ml)	(mg)	(%)
Kontroll	0,0	$8,8 \times 10^7$	7,94	69,94	-
Kessco	0,1	$1,28 \times 10^8$	8,10	45,24	35
Glyseryl	0,5	$4,16 \times 10^7$	7,62	33,60	52
Monolaurat	1,0	$3,44 \times 10^7$	7,53	1,40	98
Lauricidin*	0,1	$1,4 \times 10^7$	7,15	4,49	93
Gløyseryl	0,5	$1,3 \times 10^7$	7,11	3,93	94
Monolaurat	1,0	$3,2 \times 10^7$	7,50	0,39	99
Monomuls	0,1	$1,28 \times 10^8$	8,10	2,41	96
90-L12	0,5	$4,16 \times 10^7$	7,62	0,36	99
	1,0	$3,44 \times 10^7$	7,53	0,16	99

Kessco* inneholdt 50 vekt-% glyserylmonolaurat.
Lauricidin* inneholdt 93 vekt-% glyserylmonolaurat
Monomuls 90-L12 inneholdt 96 vekt-%glyserylmonolaurat.

Det kan sees fra testdataene angitt i tabell 9 at for en hvilken som helst gitt konsentrasjon, dvs. "add-ons" tilsetninger på 0,1%, 0,5% eller 1,0%) av esterblanding i tampongen, er den endelige mengden TSST-1 produsert under de beskrevne forsøksbetingelsene inverst proporsjonalt med konsentrasjonen av glyserylmonolaurat i esterblandingen. For eksempel hvor mengden av esterblanding i testtampongene ble holdt konstant ved 0,5% tilsetningsnivå, ble finale mengder av TSST-1 redusert fra 33,60 µg når esterblandingen inneholdt 50 vekt-% glyserylmonolaurat (dvs. Kessco*), til 3,93 µg når esterblandingen inneholdt 93 vekt-% GML (dvs. Lauricidin*), til 0,36 µg når esterblandinge inneholdt 96% glyseryl-monolaurat (dvs. Monomuls* 90-L12). Lignende reduksjoner i de finale mengdene TSST-1 produsert, ble observert når tre esterblandinger ble anvendt ved 0,1 vekt-% og 1,0 vekt-% av tampongen. Resultatene angitt i tabell 9 foreslår at glyserylmonolaurat (som inneholder to ureagerte hydroksyl-grupper avledet fra glyserol) er mere effektive til hemming av produksjon av TSST-1 enn glyseryldilaurat (som inneholder en enkelt ureagert hydroksylgruppe avledet fra glyserol).

EKSEMPEL 10

In vivo-aktivitet av glyserylmonolaurat-impregnerte tamponger

Testtamponger ble dannet som følger. Avtex rayon (100%) nr. SN2587 tre denier ble anvendt som testfibere). Fiberne ble skylt for å fjerne Tween 20 og enten bevart slik, eller belagt med glyserolmonolaurat (Henkel Monoluls L-90)(nedenfor betegnet "GML"). Den analytiske bestemmelsen av monolaurat-innholdet til materialet var 96,0%, 2,0% av 1-3 diesteren og 2,0% uidentifisert materiale. Fibre ble belagt som følger. 34,02 kg rayonfiber ble matet i en holdetank og tanken fylt med vann (452,25 l totalt). Ammoniakk (NH_3) (29,4% v/v) ble tilsatt til vannet i holdetanken. Systemet ble deretter oppvarmet til 93,3°C i 30 minutter. Fibre ble deretter

vasket med varmt vann (65,5°C) tre ganger, vaskevannet ble undersøkt for gjenværende skum som tyder på tilstedeværelse av Tween 20. Fibre ble deretter vasket med kaldt vann, 15,5°C.

Fiberne ble overført til en sentrifuge hvor det ble spunnet mens det ennå var varmt i 5 minutter for å fjerne overskudds-vann. 34 kg rayon inneholdt opprinnelig 24,5 kr vann. Rayon ble dereter åpnet ved hånd og plassert tilbake i holdetanken. To spenneplater ble plassert over fibre for å redusere agitasjon og minske skumming. Varmt vann (12-93°C) ble tilsatt etterfulgt av fire 2,3 kg prøver GML, hver løst opp i 18,9 l 77°C vann. Systemet ble trykkbelastet og varmet til 88°C og sirkulert i 30 minutter. Etter at systemet ble drenert, ble fibre tatt til sentrifugen og spunnet i 5 minutter. Ved dette tidspunktet var det 23,6 kg (70%) gjenværende vann. Temperaturen til fibre på utsiden var 71°C mens temperaturen på innsiden var 79-82°C.

Fuktige fibre ble plassert i en belteovn som var oppvarmet til omtrent 121-127°C. Denne varmebehandlingen åpnet og tørket rayonfibre ytterligere. Det belagte og uferdige fiberet ble deretter kjørt igjennom en Rando Webber etter-fulgt av karding for å danne et bearbeidbart bånd som tamponger kunne bli dannet fra.

Etter at fibre var skylt og belagt, tørket og kardet, ble rayonbåndet anvendt til produksjon av 2,30 tamponger. Fibre ble komprimert bidireksjonelt og holdt i et kompresjonslegeme (puck) i 5 sekunder. Etter kompresjon ble tampongene plassert inn i 1,6 cm o.d. applikatorer. Tampongene ble dekket av celluphane og forseglet. Kontrolltamponger ble merket (y) mens GML-belagte tamponger ble betegnet (x). Tampongene ble dannet som følger: Blanker ble dannet ved kutting av rayonet til seksjoner på 6,9 cm i lengde ganger 7,6 cm i vidde. Fiberorienteringer for lengde var maskinretning, og for vidde kryss-retning. Seksjonene ble enten bygget opp eller revet

ned for å oppnå blankvekter på 2,29 g. Rayondelen ble deretter håndrullet og belagt. For kontrollblanker var belegget 7,0 kr. Enka bikomponentstoff (6,9 cm x 12,1 cm). GML-blanker, dekket var 7,09 g. Enka bikomponentstoff belagt med 2,4% GML-oppløsning. Belegget ble varmeforseglet til seg selv ved anvendelse av et håndstrykejern. Et 13/20 hvitt rayonbånd, tilgjengelig fra Blue Mountain Industries, ble kuttet til 33 cm lengder. Båndet ble gjennomhullet gjennom en lengde av hver blank i en avstand på 13/20 cm fra enden av hullenheten og deretter ringsluttet. Hver blank ble testet for ankerstyrke ved manuell rekking av båndet etter ringslutting. Blankene ble komprimert bidireksjonalt (side-til-side, deretter ende-til-ende) og holdt i kompresjonslegemet i 5 sekunder. Rett etter kompresjon ble tampongene plassert i Reggie tre-del-applikator. (1,57 cm o.d.) Utdragningstråden ble ikke knyttet. Tampongene ble dekket med hvite cellophaneermer og forseglet.

Komprimerte tamponger ble analysert for bestemming av konsentrasjonen av GML på tampongfibrene. Gjennomsnittlig konsentrasjon av GML på tampongene som ble undersøkt var 2,38%.

In vitro-styrken til GML-tampongene sammenlignet med uferdige tamponger ble vurdert ved anvendelse av både "Holland Shake Flask"-metoden og "Reiser Tampon Sac"-metodene for vurdering av TSST-1-dannelse ved S. aureus. Disse metodene er beskrevet ovenfor i eksemplene 1 og 7. Resultatene av bestemming av virkningen av GML (2,38% v/v) belagte tamponger er angitt i tabellene 10 og 11. Tabell 10 viser at mer enn 99,9% reduksjoner i TSST-1-dannelse ble angitt når tampongene ble vurdert ved anvendelse av følgende rysteflaskemetode: 2 liter trippel-baffle-flasker ble autoklavert inneholdende 500 ml Difco hjerne-hjerte-infusjonsmedium. Etter sterilisering ble 5 ml av en 24 timer gammel kultur S. aureus-stamme identifisert som 1187 tilsatt til flaskene. Enten ble 25,0 gram mengder av testmaterialet eller ikke noe materiale (i

kontrollflaskene) tilsatt til flaskene i duplikat. Alle flaskene ble inkubert ved 37°C med risting ved 160 rpm i 24 timer, hvorpå TSST-1 konsentrasjonen og total S. aureus-celletellingsbestemmelser ble utført. TSST-1-nivået ble bestemt ved anvendelse av ELISA-test, mens totale celletellinger ble utført ved anvendelse av standard platetellingsprosedyrer.

Utsetting av GML og uferdige tamponger for S. aureus ved anvendelse av "Tampon Sac"-metoden kan sees i tabell 11. Reduksjoner i TSST-1-dannelse varierende fra 81,1% i media med blod til 95,9% uten, er demonstrert, mens virkning på det totale antallet S. aureus-celler var enten ingen i nærvær av blod eller 9,1% i rør uten blod.

In vivo-vurdering av effektiviteten ble utført som følger. Både kontroll- og GML-tamponger ble sendt til Southwest Research Institute i San Antonio, Texas, for vurdering av reduksjon av TSST-1-dannelse ved S. aureus i bavianvagina. Tolv hunnbavianer ble identifisert ved immobilisering med Ketamin HCl og vaginal undersøkelse for tilstedeværelse av infeksjon.

Uferdige kontrolltamponger hadde 5 ml av en S. aureus toksigenstamme virket i hjerne-hjerte-infeksjonsmedium i 24 timer ved 37°C absorbert på deres distale ender (ender i avstand fra tråden). Forveide kimtamponger ble øyeblikkelig introdusert inn i bavianvaginaen, uten anvendelse av et speculum, og utdragningstråden var kuttet. Rektal temperatur og indirekte systolisk blodtrykk ble tatt og registrert. 5 ml blodprøver ble tatt fra cephalic-venen og serumet lagret ved -70°C helt til analyse for tilstedeværelse av anti-TSST-1-antistoff og klinisk kjemi kunne bli utført.

Kimtamponger ble opprettholdt intravaginalt i 12 timer. Etter de første 12 timene ble bavianen immobilisert med ketamin HCl og tampongen ble fjernet. Kimtampongen ble plassert i en på

forhånd veiet 113 g plastkopp. Tampong pluss kopp ble veiet og mengden av tampong assosiert væske ble beregnet. Tampongen ble overført til en stomacher-bag inneholdende 50 ml sterilt saltvann (0,9% NaCl) og blandet i 60 sekunder. Stomacher-væsken ble deretter utsatt for kvantitativ bestemmelse av total S. aureus-celletelling og TSST-1-konsentrasjon. Bestemmelser av total celletelling ble utført ved anvendelse av metoden for standard platetelling og TSST-1-konsentrasjoner ble bestemt ved anvendelse av radioimmunanalyse (R.I.A.).

Alle tamponger satt inn etter kimtampongen ble behandlet som tidligere beskrevet. Etter fjerning av kimtampongen fikk alle bavianer kontroll (y) tamponger satt inn intravaginalt for å muliggjøre ytterligere vekst av S. aureus og TSST-1-produksjon innenfor vaginalhulrommet. Etter ytterligere 12 timer inkubasjon ble dyrene delt i to sett av seks, hvorved seks bavianer ble testet med kontrolltampongene og seks med GML-belagte tamponger. Etter 48 timer utsettingsperiode hadde alle dyrene fått inn tamponger supplementert med 5,0 ml av deres eget blodserum på grunn av redusert menstruasjonsstrømning. Totalt levedyktige S. aureus-celletellinger og TSST-1-nivåbestemmelser ble utført på alle tampongene. Etter at alle tampongene ble bearbeidet og både toksin og celletallbestemmelser var utført, ble fire dyr ekskludert fra studien (to kontrolldyr og to GML-testdyr). I disse dyrene ble enten organismen ikke overført til vaginalhulrommet for å begynne en infeksjon, eller så ble mindre toksin eller cellenivåer enn det som var kjent å ha blitt påført kimtampongen, funnet. Tabell 12 angir data av totalt toksin pr. ml tampongassosiert væske og totalt toksin på tamponger med virkning på celletellingen. Data vist er representativt for fire dyr i hver testgruppe.

Data angitt i tabell 12 demonstrerer betraktelige reduksjoner i toksindannelse i de fire dyrene med GML-tamponger i forhold til de som bare har kontrolltamponger. Figurene 1-4 represen-

terer data på virkning av GML-tamponger. Til tross for at toksinnivået i testdyr som hadde kontrolltamponger opprinnelig hadde høyere TSST-1-nivåer, bragte GML-tampongene toksinnivået betraktelig ned i forhold til det som ble observert i kontrollene.

Data som representerer totalt toksin produsert pr. 10^6 celler av S. aureus, som normaliserer dataene med hensyn på individuelle celler, demonstrerer den signifikante reduksjonen i tamponger inneholdende GML i forhold til kontrolltampongene. En trend med økende toksin i relasjon til bakterielle celler ble oppdaget i kontrolldyrene etter tilsetning av blod på 60 timers tampongene. Trenden angitt i kontrolldyrene ser ut til å være en direkte virkning på selve cellene og vekstkurven. Denne trenden ble observert i dyrene med GML-tamponger.

Dataene angitt i tabell 13 viser en direkte sammenligning av en prosentandel av kontroll av toksin på tampongassosiert væske og totalt toksin dannet i tamponger sammenlignet med kontrolltampongene.

TABELL 10

VIRKNING AV GML-BELAGTE TAMPONGER PÅ TSST-1-DANNELSE VED ANVENDELSE AV "HOLLAND SHAKE FLASK"-METODEN.

PRØVE	MEDIUM	TOTAL TSST-1 PRODUSERT	REDUKSJON	FINAL KONSENTRASJON AV LEVEDYKTIGE S. AUREUS-CELLER	TOTAL MENGDE AV LEVEDYKTIGE S. AUREUS-CELLER
		(µg)	(%)	(cfu/ml)	(cfu)
S. aureus	BHI	81,57	-	$2,4 \times 10^9$	$1,20 \times 10^{12}$
Kontroll tampong	BHI	1,62	-	$1,92 \times 10^9$	$9,60 \times 10^{11}$
GML (2,38%) tampong	BHI	<0,001	99,93	<10	$<5,00 \times 10^3$
S. aureus	Blood*	66,89	-	$2,0 \times 10^9$	$1,00 \times 10^{12}$
Kontroll tampong	Blod	6,23	-	$2,40 \times 10^9$	$1,20 \times 10^{12}$
GML (2,38%) Tampong	Blod	0,004	99,92	$1,92 \times 10^4$	$9,60 \times 10^6$

* Betegner defribrinert saueblod tilsatt til BHI i 1,0% v/v konsentrasjon.

TABELL 11

VIRKNING AV GML-BELAGTE TAMPONGER PÅ TSST-1-DANNELSE
VED ANVENDELSE AV "REISER TAMPON SAC"-METODEN

PRØVE	MEDIUM	TOTAL TSST-1 PRODUSERT	REDUKSJON	KONS. AV LEVEDYKTIG S. AUREUS-CELLER	TOTAL MENGDE LEVEDYKTIGE S. AUREUS-CELLER
		(µg)	(%)	(cfu/ml)	(cfu)
S.aureus	BHI[a]	40,00	-	$6,0 \times 10^8$	$4,68 \times 10^9$
Kontroll tampong	BHI	65,06	-	$6,0 \times 10^8$	$4,68 \times 10^9$
GML tampong	BHI	2,63	95,9	$8,0 \times 10^7$	$6,24 \times 10^8$
S. aureus	blod[b]	54,27	-	$8,4 \times 10^8$	$6,55 \times 10^9$
Kontroll tampong	blod	50,55	-	$1,5 \times 10^7$	$1,17 \times 10^8$
GML tampong	blod	9,52	81,1	$3,6 \times 10^7$	$2,80 \times 10^8$

a) Betegner hjerne-hjerte-infusjonagar.

b) Betegner defribrinert saueblod tilsatt til BHI i 1,0% v/v konsentrasjon.

302603

TABELL 12

IN VIVO VURDERING AV VIRKNINGEN AV GML-BELAGTE TAMPONGER
PÅ TSST-1-PRODUKSJON VED S. AUREUS (1169W)

TAMPONG-TYPE	TIDS-PERIODE	KONS. AV TSST-1 I TAMPONG ASSOSIERT VÆSKE	TOTALT TAMPONG TOKSIN	KONS. AV LEVEDYKTIGE S. AUREUS CELLER*	TOTAL S.AUREUS CELLER PÅ TAMPONG**	TOTALT TAMPONG TOKSIN
	(timer)	(ng/ml)	(ng)	(x 10^6cfu/ml)	(x 10^7 cfu)	10^6 organismer
KONTROLLDYR						
KONTROLL	24	987	2104	38,8	11,5	18,29
KONTROLL	36	534	4471	20,1	12,8	34,92
KONTROLL	48	1225	9435	24,3	14,3	65,97
KONTROLL	60	154	1015	6,17	4,0	25,37
KONTROLL	72	112	898	3,87	2,87	31,28
KONTROLL	84	72	630	1,38	1,13	55,75
TESTDYR						
KONTROLL	24	1136	7224	55,0	10,8	66,88
GML	36	583	1465	38,2	9,36	15,65
GML	48	355	1347	28,3	9,63	13,98
GML	60	62	426	17,5	13,2	3,22
GML	72	5,0	51	3,92	3,23	1,57
GML	84	0	0	0,41	0,33	0

* KIMTAMPONG FOR KONTROLLDYR GJENNOMSNITT 2,14 x 10^8 CFU/ML MENS TESTDYRENE HADDE 5,86 X 10^7 CFU/ML

** KIMTAMPONG FOR KONTROLLDYR GJENNOMSNITT 1,98 X 10^9 CFU MENS TESTDYRENE HADDE 5,55 X 10^8 CFU

302603

TABELL 13

PROSENT AV KONTROLL MED TOKSINDANNELSE

TAMPONGTYPE	PROSENT KONTROLL AV TOKSIN I TAMPONG ASSOSIERT VÆSKE	PROSENT KONTROLL AV TOTAL TOKSIN PÅ TAMPON DANNET
	(%)	(%)
KONTROLLDYR		
KONTROLL	-	-
KONTROLL	199	294
KONTROLL	134	102
KONTROLL	29	40
KONTROLL	56	77
KONTROLL	41	199
KONTROLLDYR		
KONTROLL	-	-
GML	46	30,5
GML	33,5	20,25
GML	6,75	5,75
GML	3,25	4,0
GML	4	< 1,0

TABELL 14

VIRKNING AV FORSKJELLIGE FETTSYREESTERFORBINDELSER PÅ VEKSTEN OG TSST-1-DANNELSEN

PRØVE	LOG AV FINAL KONS. AV S. AUREUS	TOTAL MENGDE TSST-1 PRODUSERT	REDUKSJON I TSST-1-DANNELSE
	(/ml)	(μM)	(%)
Inoc. 1169	11,0	15,45	--
Kontroll-tampong	9,60	8,566	--
Tampong 1			
0,1%	9,1	7,93	7%
0,5%	7,64	1,25	85%
1,0%	8,79	0,09	99%
10%	8,37	0,05	99%
Tampong 2			
0,1%	8,45	0,12	99%
0,5%	7,40	0,01	99%
1,0%	6,13	0,01	99%
10%	7,42	0,11	99%

EKSEMPEL 11

I eksempel 11 ble tamponger omfattende forskjellige fettsyreestere testet for å bestemme deres virkning på veksten av og TSST-1-dannelsen ved S. aureus-bakterier (FRI-1169). Testtamponger av samme type som anvendt i eksempel 1 ble anvendt i dette eksemplet. Testtamponger omfattende 0,%, 0,5%, 1,0% 10% fettsyreester basert på vekten av ubehandlede testtamponger ble preparert ifølge generell prosedyre beskrevet tidligere heri og ble testet ifølge "Tampon Sac"-metoden beskrevet i eksempel 1. Duplikat-testtamponger uten fettsyreester ble anvendt som kontroller. Testresultatene er angitt i tabell 14.

Følgende er en liste av fettsyreestere som ble evaluert:

Tampong nr. 1- 2-hydroksy-1-propyl-laurat

Tampong nr. 2- dietylenglykolmonolaurat

Testresultatene viser at det var en markert reduksjon i mengden av TSST-1 produsert av S. aureus-stamme FRI-1169 i nærvær av tamponger behandlet med forskjellige fettsyreestere sammenlignet med mengden av TSST-1 produsert i nærvær av ubehandlede kontrolltamponger. Reduksjon i mengden av TSST-1 produsert, varierte fra omtrent 7% (i tilfelle 0,1% 2-hydroksy-1-propyl-laurat) til omtrent 99% (i tilfelle 1,0% 2-hydroksy-1-propyl-laurat). Ikke noe tilsvarende mønster på reduksjonen i antallet levedyktige S. aureus-celler ble observert.

Patentkrav

1.
Absorberende produkt omfattende absorberende materiale og en forbindelse valgt fra gruppen bestående av:

a) monoestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og hvori nevnte monoester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkoholrest;

b) diestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og hvori nevnte diester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkoholrest; og

c) blandinger av nevnte monoestere og diestere, karakterisert ved at produktet omfatter minst et toksininhiberende middel som består i det vesentlige av nevnte forbindelse og hvor forbindelsen er tilstede i en mengde som er effektiv til å hemme produksjonen av toksisk sjokksyndrom-toksin-1 ved Staphylococcus aureus-bakterier når nevnte produkt blir utsatt for nevnte bakterier.

2.
Absorberende produkt ifølge krav 1, karakterisert ved at nevnte forbindelse er tilstede i en mengde som er minst 0,1% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

3.
Absorberende produkt ifølge krav 1, karakterisert ved at nevnte forbindelse er tilstede i en mengde som er minst 0,5% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

4.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse er tilstede i en mengde som er minst 1% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

5.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte fettsyre er laurinsyre.

6.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte flerverdige alkohol er glyserol.

7.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse er glyserylmonolaurat.

8.
Absorberende produkt ifølge krav 7, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte glyserylmonolaurat er tilstede i en mengde som er minst 0,1 vekt-% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

9.
Absorberende produkt ifølge krav 7, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte glyserylmonolaurat er tilstede i en mengde som er minst 0,5 vekt-% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

10.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter en blanding av glyserylmonolaurat og glyseryldilaurat.

11.
Absorberende produkt ifølge krav 10, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding er tilstede i en mengde som er minst 0,1% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

12.
Absorberende produkt ifølge krav 11, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 93 vekt-% glyserylmonolaurat.

13.
Absorberende produkt ifølge krav 11, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 95 vekt-% glyserylmonolaurat.

14.
Absorberende produkt ifølge krav 10, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding er tilstede i en mengde som er minst 0,5 vekt-% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

15.
Absorberende produkt ifølge krav 14, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 93 vekt-% glyserylmonolaurat.

16.
Absorberende produkt ifølge krav 14, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 95 vekt-% glyserylmonolaurat.

17.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyseryl-monokaprylat.

18.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyseryl-kaprat.

19.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter en blanding av glyserylmonokaprylat og glyserylkaprat.

20.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyseryl-monomyristat.

21.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyseryl-monopalmitat.

22.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyseryl-monostearat.

23.
Absorberende produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyseryl-monooleat.

24.
Menstruasjonstampong omfattende et absorberende materiale og en forbindelse valgt fra gruppen bestående av:

a) monoestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og

hvori nevnte monoester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkoholrest;

b) diestere av en flerverdig alifatisk alkohol og en fettsyre inneholdende fra 8 til 18 karbonatomer og hvori nevnte diester har minst en hydroksylgruppe assosiert med dens alifatiske alkholrest; og

c) blandinger av nevnte monoestere og diestere, k a r a k t e r i s e r t v e d at tampongen omfatter minst ett toksininhiberende middel som består i det vesentlige av nevnte forbindelse og hvor forbindelsen er tilstede i en mengde som er effektiv til å hemme produksjonen av toksisk sjokk-syndrom-toksin-1 ved Staphylococcus aureus-bakterier når nevnte produkt blir utsatt for nevnte bakterier.

25.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse er tilstede i en mengde som er minst 0,1% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

26.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse er tilstede i en mengde som er minst 0,1% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

27.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse er tilstede i en mengde som er minst 1% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

28.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte fettsyre er laurinsyre.

29.
Tampong følge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte flerverdige alkohol er glyserol.

30.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse er glyserylmonolaurat.

31.
Tampong ifølge krav 30, k a r a k t e r i s e r t v e d nevnte glyserylmonolaurat er tilstede i en mengde som er minst 0,1 vekt-% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

32.
Tampong ifølge krav 30, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte glyserylmonolaurat er tilstede i en mengde som er minst 0,5 vekt-% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

33.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter en blanding av glyserylmonolaurat og glyseryldilaurat.

34.
Tampong ifølge krav 33, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding er tilstede i en mengde som er minst 0,1% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

35.
Tampong ifølge krav 34, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 93 vekt-% glyserylmonolaurat.

36.
Tampong ifølge krav 33, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 95 vekt-% glyserylmonolaurat.

37.
Tampong ifølge krav 33, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding er tilstede i en mengde som er minst 0,5 vekt-% basert på vekten av nevnte absorberende materiale.

38.
Tampong ifølge krav 37, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 93 vekt-% glyserylmonolaurat.

39.
Tampong ifølge krav 37, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte blanding omfatter minst 95 vekt-% glyserylmonolaurat.

40.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyserylmonokaprylat.

41.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyserylkaprat.

42.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter en blanding av glyserylmonokaprylat og glyserylkaprat.

43.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyserylmonomyristat.

44.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyserylmonopalmitat.

45.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyserylmonostearat.

46.
Tampong ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte forbindelse omfatter glyserylmonooleat.

TSST-1 - TOKSINPRODUKSJON

TSST-1 PR. ML TAMPONG-
ASSOSIERT VÆSKE

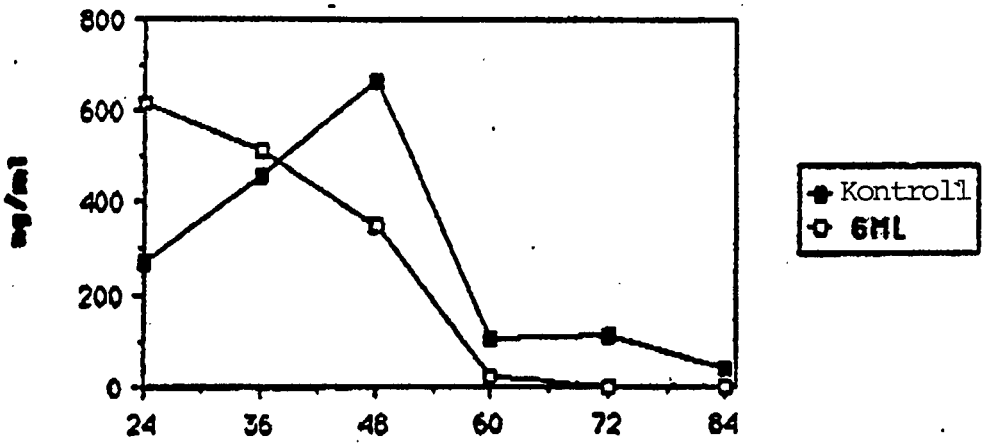

Fig. 1

Tid (t)

TOTAL TAMPONGTOKSINPRODUKSJON

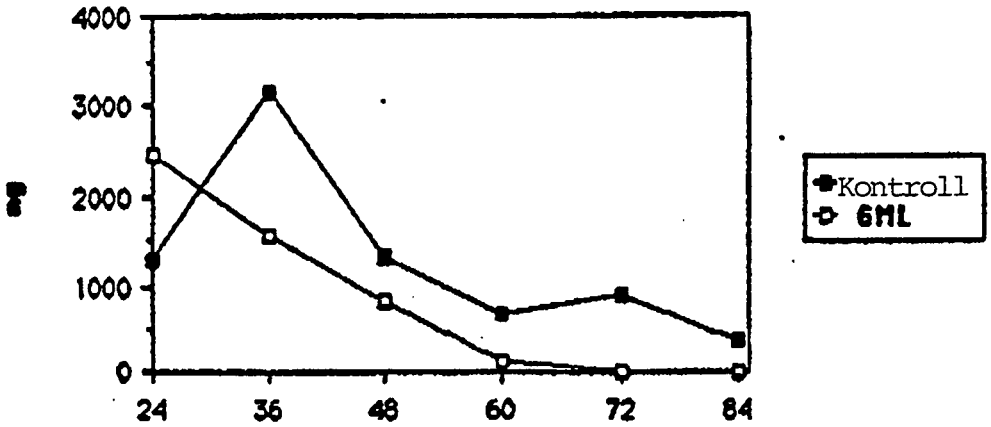

Fig. 2

Tid (t)

TSST-1-TOKSINPRODUKSJON SOM % AV KONTROLL (OPPRINNELIG) UTSETTING

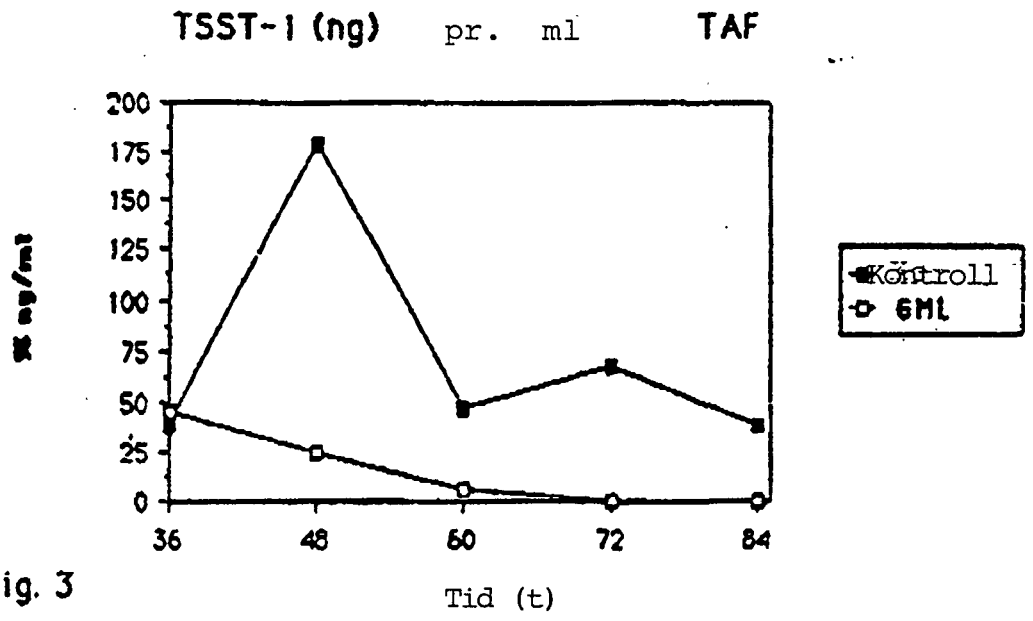

Fig. 3

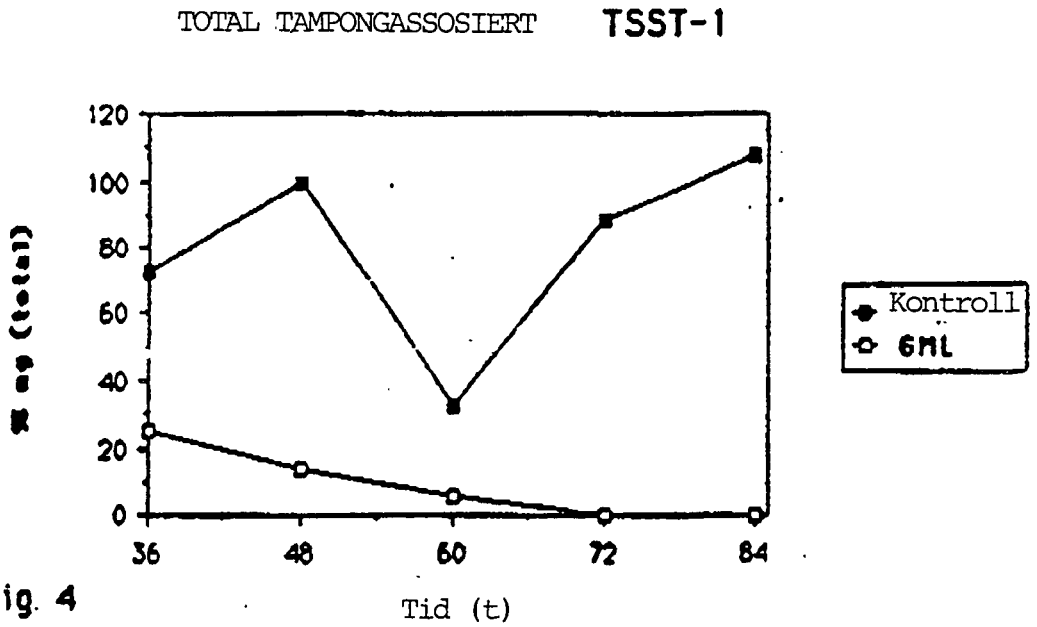

Fig. 4