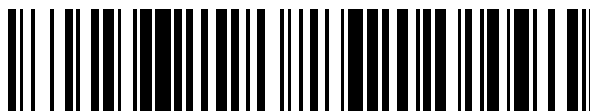


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 778 062**

51 Int. Cl.:

A61K 36/064 (2006.01)

A61P 15/02 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.07.2013 PCT/FR2013/051643**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.01.2014 WO14009656**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.07.2013 E 13756560 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 2874636**

54 Título: **Levadura *Saccharomyces cerevisiae* para prevenir y/o tratar las micosis vaginales**

30 Prioridad:

13.07.2012 FR 1256799

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.08.2020

73 Titular/es:

LESAFFRE ET COMPAGNIE (100.0%)
41, rue Etienne Marcel
75001 Paris, FR

72 Inventor/es:

VANDEKERCKOVE, PASCAL

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 778 062 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Levadura *Saccharomyces cerevisiae* para prevenir y/o tratar las micosis vaginales

La presente invención se refiere a un nuevo uso terapéutico de una levadura *Saccharomyces cerevisiae*, es decir a un uso para la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales.

- 5 Las micosis vaginales o vulvo-vaginales son provocadas principalmente por una infección por hongos patógenos, más frecuentemente *Candida albicans*, en la zona íntima de las mujeres.

Las micosis vaginales se consideran actualmente un problema importante de salud pública y constituyen la segunda causa de infección vaginal después de las vaginitis bacterianas.

- 10 Se estima que el 75% de las mujeres desarrollan en algún momento una micosis vaginal. Alrededor del 50% de ellas padecerán al menos 2 a 3 episodios de micosis vaginales durante su vida. Del 10 al 20% de las mujeres padecen micosis vaginales recidivantes con una media de 4 episodios al año.

En el año 2000 se estimó en Estados Unidos que los costes médico-económicos del tratamiento de esta patología eran del orden de mil millones de dólares al año.

- 15 Los tratamientos antimicóticos habitualmente usados hasta la fecha se basan en el uso de moléculas terapéuticas, principalmente derivados azólicos, tales como por ejemplo, fluconazol, ketoconazol, econazol, miconazol o clotrimazol, administrados generalmente en forma de crema u óvulo para ser introducidos en la vagina. En ciertos casos, un tratamiento por vía oral complementa el tratamiento por vía local.

- 20 Sin embargo, uno de los principales problemas con este tipo de tratamiento es que, durante las micosis vaginales recurrentes, el hongo patógeno, en particular *Candida albicans*, puede desarrollar resistencia a los tratamientos antimicóticos existentes.

Otro problema en el uso de derivados azólicos para tratar las micosis es la sensación de irritación y escocedura en la vulva.

- 25 Publicaciones recientes han mostrado que el uso de probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* GR-1 y *Lactobacillus reuteri* RC14) asociados a la molécula de fluconazol permitía aumentar la eficacia del fluconazol en el tratamiento de las micosis (Martinez et al., Letters in Applied Microbiology, 2009, (48)269-274).

Se recuerda que el efecto probiótico de una cepa dada, ya sea una cepa de bacteria o una cepa de levadura, es específico de esta cepa, y no del género ni de la especie considerada.

Además, se sabe que si las micosis vaginales son causadas principalmente por *Candida albicans*, se han descrito casos de infecciones causadas por *Saccharomyces cerevisiae* (Savini et al., Mycopathologia, 2008, 166:47-50).

- 30 El documento BR 0 002 018 A describe el uso de *Saccharomyces cerevisiae* para el tratamiento de infecciones vaginales causadas por microorganismos patógenos, tales como protozoos, hongos y/o bacterias. Más particularmente, la cepa utilizada es una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* variedad *boulardii*.

- 35 Los objetos de la invención se definen en las reivindicaciones. Todos los demás objetos se describen con fines ilustrativos, y las indicaciones de que estos objetos constituirían la invención, o cualquier indicación similar, deben entenderse en el contexto de la solicitud tal como se deposita, sin cambiar el alcance de protección de las reivindicaciones.

Por tanto, uno de los objetivos de la presente invención es proponer nuevos medicamentos o suplementos nutricionales con un efecto sobre la salud destinado a la prevención y/o al tratamiento de la micosis vaginal.

- 40 Otro objetivo de la invención es proponer nuevos medicamentos o suplementos nutricionales con un efecto sobre la salud destinado al tratamiento de la micosis que no presenten los inconvenientes mencionados anteriormente relacionados con la toma de derivados azólicos (fenómeno de resistencia, efectos secundarios tales como irritación, ardor, ...), presentando mientras una eficacia al menos comparable a la de los tratamientos existentes.

- 45 Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que el uso de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada el 17 de octubre de 2007 en la CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, 25, rue du Docteur Roux, 75724 París cedex 15, Francia) con el número I-3856, permitió alcanzar estos objetivos.

Por tanto, la invención se refiere a la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada por la sociedad solicitante en la CNCM con el número I-3856 para su uso en la prevención y/o tratamiento de micosis vaginales, y más particularmente de las candidiasis vaginales.

La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada con el número I-3856 ha sido descrita previamente por la sociedad solicitante en el documento WO 2009/103884. Esta cepa ha sido descrita más particularmente para su uso en la prevención y/o el tratamiento de patologías, desórdenes o trastornos del intestino.

5 Sin embargo, el comportamiento de los hongos patógenos y de los probióticos frente a la mucosa intestinal no es extrapolable al adoptado frente a la mucosa vaginal, siendo principalmente diferente el entorno de estas mucosas.

Que sepa la sociedad solicitante, es la primera vez que se describe que una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* tiene un efecto sobre la prevención y/o el tratamiento de las micosis vaginales.

La expresión «cepa de levadura» se refiere a una población relativamente homogénea de células de levadura.

10 Una cepa de levadura se obtiene por aislamiento de un clon, siendo un clon una población de células obtenidas de una sola célula de levadura.

Según otro modo de realización, la presente invención se refiere a la levadura *Saccharomyces cerevisiae* obtenida por cultivo de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada en la CNCM con el número I-3856, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, y más particularmente candidiasis vaginales.

15 La levadura utilizada según la invención se obtiene por cultivo de la cepa número I-3856 en un medio de cultivo, por ejemplo como está descrito en el libro de referencia «Yeast Technology», 2ª edición, 1991, G. Reed y T.W. Nagodawithana, publicado por Van Nostrand Reinhold, ISBN 0-442-31892-8.

La levadura usada según la invención se puede obtener por un procedimiento a escala industrial que comprende las dos etapas siguientes:

20 - cultivo de una cepa de levadura en un medio de cultivo en varias etapas, primero semi-anaeróbica, luego aeróbica,

- separación por centrifugación de la levadura así producida de su medio de cultivo, para obtener una crema de levadura líquida que contiene entre 12 y 25% de materia seca, o incluso una cantidad más elevada de materia seca, en particular si la crema de levadura se mezcla con productos osmólitos.

25 En la presente invención, se usarán indistintamente los términos «levadura obtenida por cultivo de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* depositada en la CNCM con el número I-3856», «levadura obtenida por cultivo de la cepa I-3856» y «levadura Sc I-3856», teniendo estos tres términos el mismo significado que el dado anteriormente.

30 Según incluso otro modo de realización, la invención se refiere a un derivado de levadura obtenido por cultivo de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* depositada en la CNCM con el número I-3856, para su uso en la prevención y/o tratamiento de micosis vaginales, en particular candidiasis vaginales, eligiéndose dicho derivado entre la pared de dicha levadura, los glucanos parietales de dicha levadura, las manoproteínas parietales de dicha levadura o sus mezclas.

La pared de la levadura se refiere en general tanto a la pared como a la membrana plasmática de la levadura.

35 Convencionalmente, la pared de la levadura se obtiene por un procedimiento que comprende una etapa de autólisis de la levadura seguida de una etapa de separación de la fracción soluble de la fracción insoluble, correspondiendo la fracción insoluble aislada a la pared de la levadura que luego se puede secar.

La presente descripción tiene particularmente por objeto una pared de levadura Sc I-3856, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, a una dosis diaria de 1 mg a 10 g y preferiblemente de 100 mg a 1 g.

40 La presente descripción tiene igualmente por objeto glucanos parietales de levadura Sc I-3856, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, a una dosis diaria de 0,25 mg a 2,5 g y preferiblemente de 25 mg a 250 mg.

La presente descripción tiene particularmente por objeto manoproteínas parietales de levadura Sc I-3856, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, a una dosis diaria de 0,1 mg a 1 g y preferiblemente de 10 mg a 100 mg.

45 Se entiende por «micosis vaginal» cualquier infección en la zona vaginal provocada por hongos.

El término «vaginal» se usa ampliamente y los términos «vaginal» y «vulvo-vaginal» son aquí sinónimos.

Se entiende por «candidiasis vaginal» un tipo particular de micosis vaginal provocada por hongos del género *Candida*, como por ejemplo, los elegidos del grupo que comprende *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* y sus mezclas.

50 La candidiasis vaginal se denomina igualmente vaginitis candidiásica.

- La presente invención tiene igualmente así por objeto una cepa tal como se ha definido anteriormente, una levadura tal como se ha definido anteriormente o un derivado tal como se ha definido anteriormente, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de las candidiasis vaginales, como por ejemplo las candidiasis provocadas por hongos seleccionados del grupo que comprende *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* y sus mezclas.
- La levadura Sc I-3856 se puede usar de manera preventiva en mujeres que presenten predisposiciones y/o una sensibilidad a las micosis vaginales, principalmente a las candidiasis vaginales, o de manera curativa, por ejemplo, durante episodios infecciosos.
- Sin pretender vincularse a ninguna teoría, los presentes inventores son de la opinión que la administración de una levadura obtenida por cultivo de la cepa I-3856 permite inhibir la multiplicación de *Candida* en la vagina, principalmente disminuyendo la adherencia de *Candida* a la mucosa vaginal. Además, las estructuras polisacáridas parietales, en particular los glucanos y los mananos, desempeñan un papel en este modo de acción.
- Según un modo de realización ventajoso de la invención, la levadura Sc I-3856 usada está viva.
- La levadura viva se presenta, por ejemplo, en forma de levadura fresca o en forma de una levadura seca.
- La presente descripción tiene principalmente por objeto la levadura Sc I-3856 en forma de levadura seca o levadura fresca, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, por ejemplo a una dosis diaria de 1.10^7 a 1.10^{11} UFC y preferiblemente de 1.10^9 a 1.10^{10} UFC.
- Una levadura fresca se caracteriza por un alto contenido de agua.
- Una levadura fresca se elige, por ejemplo, entre una levadura prensada y una levadura líquida.
- Una levadura líquida según la invención, denominada igualmente «crema de levadura líquida» es una suspensión acuosa que comprende del 12% al 50% de materia seca de levadura, más generalmente del 12% al 22% de materia seca de levadura.
- Una levadura prensada según la invención se obtiene por:
- filtración de una crema de levadura líquida, generalmente por un filtro rotatorio a vacío, para obtener una levadura fresca deshidratada que contenga del 26% al 37% de materia seca,
 - amasado de dicha levadura fresca deshidratada y extrusión.
- Una levadura prensada comprende de 26% a 37% de materia seca de levadura.
- La levadura prensada puede ser desmenuzada o no.
- Entre las levaduras secas, se pueden citar, por ejemplo, la levadura seca activa, la levadura seca instantánea y la levadura de humedad intermedia congelada.
- Una ventaja de una levadura seca es su larga vida útil.
- Una levadura seca activa o una levadura seca activa instantánea según la invención comprende una tasa de materia seca de levadura superior al 90%, preferiblemente una tasa de materia seca comprendida entre 92% y 96%.
- La levadura seca activa se obtiene por deshidratación de la levadura prensada o líquida por la acción conjunta del calor (a baja temperatura) y una actividad mecánica, lo que permite transformar un producto pastoso (levadura prensada o líquida) en un producto seco, en forma de esférulas.
- Por ejemplo, la levadura seca activa se obtiene por extrusión y secado en lecho fluidizado de una levadura prensada o de una levadura líquida.
- La levadura seca activa se presenta en forma de esférulas cuyo diámetro está comprendido generalmente entre 0,1 μm y 2,5 mm.
- La levadura seca instantánea se obtiene por deshidratación de la levadura prensada o líquida por la acción de un gradiente de aire caliente que permite transformar un producto pastoso (levadura prensada o líquida) en fideos secos finos. Para permanecer estable, la levadura seca instantánea debe ser acondicionada en ausencia de oxígeno.
- La levadura seca con humedad intermedia congelada comprende, por ejemplo, del 70% al 85% de materia seca de levadura.

En un modo de realización preferido, la levadura Sc I-3856 usada según la invención en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, se presenta en forma de levadura seca activa o en forma de levadura seca instantánea.

- 5 Según otro modo de realización ventajoso de la invención, la levadura Sc I-3856 usada según la invención en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales se presenta en forma de levadura muerta, denominada igualmente levadura desactivada.

Una levadura muerta es una levadura cuyo metabolismo está irremediabilmente detenido.

- 10 Una levadura muerta se puede obtener por métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, tales como un tratamiento térmico de la levadura, un tratamiento que consiste en someter la levadura a varios ciclos sucesivos de congelación y descongelación, un tratamiento por irradiación, un tratamiento por pulverización o una combinación de estos tratamientos.

La presente descripción tiene igualmente por objeto la levadura Sc I-3856 en forma de levadura muerta, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, a una dosis diaria de 1 mg a 10 g y preferiblemente de 100 mg a 1 g.

- 15 La presente descripción tiene igualmente por objeto una cepa tal como se ha definido anteriormente, una levadura tal como se ha definido anteriormente o un derivado tal como se ha definido anteriormente, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, administrándose dicha cepa, dicha levadura o dicho derivado por vía oral o por vía vaginal, preferiblemente por vía vaginal.

- 20 La invención se refiere igualmente a una composición que comprende la levadura Sc I-3856 y/o un derivado de dicha levadura, para uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales.

La composición según la invención puede ser una composición farmacéutica, un suplemento nutricional con efecto sobre la salud o una composición alimenticia.

- 25 La invención se refiere igualmente a una composición que comprende la levadura Sc I-3856 y/o a un derivado de dicha levadura, y opcionalmente al menos a un excipiente farmacéuticamente aceptable para uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales.

Las micosis vaginales son tales como se ha definido anteriormente.

La composición usada según la invención está destinada a una administración por vía oral o vaginal, prefiriéndose la vía vaginal.

- 30 Como ejemplo de composición que se presenta en una forma adecuada para la vía oral se pueden citar un comprimido, una cápsula, una cápsula de gelatina, una bolsita, un polvo, una crema, un jarabe o una ampolla.

Como ejemplo de composición que se presenta en una forma adecuada para la vía vaginal se pueden citar un óvulo, una cápsula, una cápsula de gelatina, una crema o un comprimido.

Los excipientes usados en la composición según la invención son excipientes usados convencionalmente que son adecuados para la preparación de formas orales o vaginales.

- 35 La dosificación diaria depende tanto del tipo de micosis, del modo de administración (vía oral o vía vaginal) como del tipo de tratamiento curativo o preventivo.

Según un modo de realización particular de la invención, la composición comprende la levadura Sc I-3856 en forma de levadura muerta, para uso diario en una cantidad de 1 mg a 10 g y preferiblemente de 100 mg a 1 g.

- 40 Según otro modo de realización de la invención, la composición comprende la levadura Sc I-3856 en forma seca o fresca, para uso diario en una cantidad de $1 \cdot 10^7$ a $1 \cdot 10^{11}$ UFC y preferiblemente de $1 \cdot 10^9$ a $1 \cdot 10^{10}$ UFC.

Según otro modo de realización, la composición comprende una pared de levadura Sc I-3856, para uso diario en una cantidad de 1 mg a 10 g y preferiblemente de 100 mg a 1 g.

Según otro modo de realización, la composición comprende glucanos parietales de levadura Sc I-3856, para uso diario en una cantidad de 0,25 mg a 2,5 g y preferiblemente de 25 mg a 250 mg.

- 45 Según otro modo de realización, la composición comprende manoproteínas parietales de levadura Sc I-3856, para uso diario en una cantidad de 0,1 mg a 1 g y preferiblemente de 10 mg a 100 mg.

La dosis diaria eficaz se puede administrar en una, dos o tres veces.

La presente invención tiene además por objeto una composición farmacéutica que comprende la levadura Sc I-3856 y/o el derivado de levadura Sc I-3856 en combinación con otro principio activo y eventualmente un excipiente farmacéuticamente aceptable, para uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales.

5 El principio activo usado en asociación con la levadura Sc I-3856 puede ser un principio activo que tenga una actividad calmante, antiirritante, analgésica, antiálgica, antiinflamatoria, cicatrizante, antifúngica, antimicótica y/o antimicótica.

Cuando la composición farmacéutica comprende la levadura Sc I-3856 y/o el derivado de levadura Sc I-3856 en asociación con un principio activo que tiene una actividad antifúngica, dicho principio activo que tiene una actividad antifúngica no tiene efecto sobre *Saccharomyces cerevisiae*.

10 Los términos «antifúngico», «antimicótico» y «antimicótico» aquí son sinónimos.

La presente invención se ilustrará con la ayuda de los ejemplos y figuras siguientes, que se proporcionan a modo de ilustración, de ninguna manera limitativos, y en los que:

15 - la figura 1 es un histograma que representa los valores de ABC (Área Bajo la Curva) representativos del número de células viables de *Candida albicans* encontradas en la mucosa vaginal de ratas tratadas con fluconazol (en blanco) o no tratadas con fluconazol (en negro) en los trece primeros días después de la infección por *Candida albicans*,

20 - la figura 2 es un histograma que representa los valores de ABC (Área Bajo la Curva) representativos del número de células viables de *Candida albicans* encontradas en la mucosa vaginal de ratas tratadas con fluconazol (en blanco) o no tratadas con fluconazol (en negro) entre los días D2-D13, D2-D5, D5-D7 y D7-D13 después de la infección por *Candida albicans*,

- la figura 3 representa una evaluación semicuantitativa de los antígenos de la estructura manosídica característica de *Candida albicans* en función del tiempo (en días), presentes en ratas tratadas con fluconazol (rombos blancos) o no tratadas (cuadrados negros) después de una infección por *Candida albicans*,

25 - la figura 4 es un histograma que representa los valores de ABC para las ratas no tratadas (en negro), las ratas tratadas con fluconazol (en blanco) o las ratas tratadas con la levadura Sc I-3856 en tratamiento preventivo (punteado) o curativo (rayado), entre los días D2-D13, D2-D5, D5-D7 y D7-D13 después de la infección por *Candida albicans*,

30 - la figura 5 representa el número de células viables de *Candida albicans* (en UFC) encontradas en los líquidos de enema vaginal de ratas no tratadas (rombos blancos) o tratados con fluconazol (cuadrados negros), o con la levadura Sc I-3856 en tratamiento preventivo (círculos blancos) o curativo (círculos negros), después de una infección por *Candida albicans*, y en ratas de control no infectadas (triángulos blancos) y ratas de control no infectadas tratadas con la levadura Sc I-3856 (cuadrados blancos),

35 - la figura 6 representa una evaluación semicuantitativa de los antígenos de estructura manosídica característica de *Candida albicans* en función del tiempo (en días), presentes respectivamente en ratas no tratadas (rombos blancos) o tratadas con fluconazol (cuadrados negros) o con la levadura Sc I-3856 en tratamiento preventivo (círculos blancos) o curativo (círculos negros) después de una infección por *Candida albicans*, en ratas de control no infectadas (triángulos blancos) y ratas de control no infectadas tratadas con levadura Sc I-3856 (cuadrados blancos).

40 Ejemplo: Definición de un modelo de infección vaginal inducido por *Candida albicans* en ratas hembra y la puesta de manifiesto del efecto de la levadura Sc I-3856 en este modelo.

El modelo desarrollado a continuación ha permitido demostrar que la administración de la levadura Sc I-3856 en ratas hembra permite prevenir y/o tratar las micosis vaginales provocadas por una infección inducida por *Candida albicans* (*C. albicans*).

Materiales y métodos

45 Los experimentos con animales se llevan a cabo en establecimientos aprobados por el Institut Pasteur de Lille, de conformidad con las directivas europeas sobre experimentación con animales.

El recuento celular se efectúa según el método de conteo por colonia. Los valores se expresan en unidades formadoras de colonias (UFC).

Los animales se alojan en 3 por jaula con acceso libre a alimentos estándares para ratas, así como agua del grifo.

50 Las ratas hembra ovariectomizadas (*Sprague-Dawley*) de 3 a 5 semanas se compraron a Janvier Laboratoires, Francia. Se mantienen bajo pseudo-estro por una inyección subcutánea de benzoato de estradiol (Sigma, benzoato

de estradiol puesto de nuevo en suspensión en aceite de sésamo; 0,5 mg/animal) cada dos días (tres veces por semana) hasta el final del experimento.

Una semana después de la primera inyección del estradiol que induce el pseudo-estro, se infectan las ratas hembra por *C. albicans*. Una infección por *C. albicans* corresponde a una única administración intravaginal de la cepa de *C. albicans* a la concentración de 10^7 UFC.

5

Las ratas hembra se distribuyen en 6 grupos diferentes como se muestra a continuación.

Grupo analizado	Infección única por <i>C. albicans</i>	Levadura Sc I-3856	Volumen	Vía de aplicación	Número de animales por grupo
Vehículo	0	0	100 µL	Administración intravaginal	7
<i>C. albicans</i>	10^7 UFC	0	100 µL	Administración intravaginal	7
<i>Levadura Sc I-3856</i>	0	10^7 UFC	100 µL	Administración intravaginal	7
<i>C. albicans</i> + <i>Levadura Sc I-3856</i> Preventivo	10^7 UFC	10^7 UFC	100 µL	Administración intravaginal	7
<i>C. albicans</i> + <i>Levadura Sc I-3856</i> Curativo	10^7 UFC	10^7 UFC	100 µL	Administración intravaginal	7
<i>Candida</i> + Fluconazol (50 µg)	10^7 UFC	0	100 µL	Administración intravaginal	7

La levadura Sc I-3856 analizada está en forma de una levadura seca activa.

El fluconazol es el agente antifúngico de referencia, usado como control positivo porque generalmente se usa para tratar la candidiasis vaginal.

- 10 El fluconazol se administra por vía intravaginal en una dosis de 50 µg por rata, 1 hora, 24 horas y 48 horas respectivamente después de la infección por *C. albicans*.

Tratamiento preventivo con levadura Sc I-3856

La levadura Sc I-3856 puesta en suspensión en un tampón de PBS se administra en la dosis de 10^7 UFC por rata y por administración intravaginal, 48 horas, 24 horas y 1 hora respectivamente antes de la infección por *C. albicans*.

- 15 La levadura Sc I-3856 se administra luego cada 8 días hasta el final del experimento.

Tratamiento curativo con la levadura Sc I-3856

La levadura Sc I-3856 puesta en suspensión en un tampón de PBS se administra en la dosis de 10^7 UFC por rata y por administración intravaginal, 1 hora, 24 horas y 48 horas respectivamente después de la infección por *C. albicans*.

La levadura Sc I-3856 se administra luego cada 8 días hasta el final del experimento.

Evaluación del crecimiento de la colonia de C. albicans

El número de colonias de *C. albicans* adherente a la mucosa vaginal se evalúa cada dos días después de la infección por *Candida albicans* y hasta el final del experimento (3 semanas más tarde) realizando un frotis cervicouterino (con un óse calibrado) y por extensión sobre placas *Chrom-Agar* (un medio de crecimiento específico y selectivo para *Candida*), reuniéndose 5 muestras vaginales.

Las colonias viables de *Candida albicans* se cuentan después de dos días de cultivo a 30°C en un medio selectivo (placas *Chrom-Agar*, BD).

Evaluación citológica de la inflamación.

Los frotis se efectúan a partir de una muestra cervical y de enemas vaginales.

Se realizan preparaciones de células en capa delgada sobre portaobjetos a partir de enemas vaginales reunidos en cada grupo de ratas (enemas vaginales de 5 ratas) por medio de una citocentrífuga (Cytospin®). Los portaobjetos se fijan usando un fijador aerosol citológico (Cytoral®).

Se toma una muestra vaginal de 2 ratas por grupo 10 días después de la infección por *C. albicans*.

Se realiza una tinción clásica de May Grunwald Giemsa para evaluar el nivel de inflamación en los grupos de ratas que han recibido *C. albicans* sola o asociada al tratamiento con la levadura Sc I-3856.

También se llevan a cabo estudios citológicos y se realiza una tinción de Papanicolaou para evaluar la colpocitología hormonal. El estudio se realiza en un frotis cervicouterino.

La tinción inmunohistoquímica se realiza también en cortes vaginales y frotis cervicouterinos usando anticuerpos dirigidos contra *C. albicans* (5B2) o la lectina de *Galanthus nivalis* (GNL) para la levadura Sc I-3856.

Análisis biológicos

El pH de los enemas vaginales reunidos se evalúa cada dos días usando una tira de pH.

La detección de un antígeno de *C. albicans* es útil para diagnosticar una candidiasis vaginal. El antígeno incluye una estructura manósídica fuertemente inmunógena presente en la pared celular de *C. albicans*. El antígeno con estructura manósídica es el principal antígeno presente durante la infección vaginal, por lo tanto, constituye un biomarcador útil para el diagnóstico de la candidiasis invasiva.

Una primera posibilidad para detectar la presencia del antígeno con estructura manósídica consiste en utilizar el método inmunoenzimático ELISA (*Platelia Candida Ag test*, Bio-Rad).

El nivel de antígeno de *C. albicans* se evalúa en enemas vaginales reunidos, diluidos 1/10 con tratamiento térmico estándar y de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes. La cantidad de antígenos detectados se expresa en picogramos por mL.

Otra posibilidad para detectar la presencia del antígeno de estructura manósídica consiste en utilizar tiras ICT (*Candi Vagi*, SR2B). «ICT» se basa en la captura del antígeno contenido en las secreciones vaginales por el uso de una inmunoglobulina IgM de ratón dirigida contra el antígeno con estructura manósídica. El anticuerpo monoclonal reconoce los epítomos del antígeno con estructura manósídica para una amplia gama de especies de *Candida*. El anticuerpo monoclonal se conjuga con partículas o en una fase móvil y se aplica igualmente a una tira de nitrocelulosa como anticuerpo de captura. El bastoncillo ICT se coloca en la suspensión de la toma vaginal y las muestras se desplazan por acción capilar a través del bloque que contiene el conjugado «MAb-or» (Mab significa anticuerpo monoclonal). El análisis se realiza como se describe en la publicación de Marot-Leblond et al., *Journal of Clinical Microbiology*, 2009.

El nivel de inflamación se evalúa midiendo el nivel de calprotectina (una enzima liberada por los neutrófilos) en las muestras vaginales y se cuantifica usando un kit validado para cuantificar la calprotectina humana en las heces (kit Labodia).

Los análisis estadísticos se realizan utilizando el ensayo de permutación para dos muestras independientes. Las estadísticas se calculan utilizando el programa informático StatXact (Cytel Inc, Cambridge, MA, USA). Las diferencias se consideran estadísticamente significativas si el valor p es inferior a 0,05.

Resultados y discusión

Con el control fluconazol

Frotis cervicouterinos correspondientes a la presencia de *C. albicans* viables en la mucosa vaginal de ratas.

La Tabla 1 a continuación representa el valor medio del crecimiento de las colonias de *C. albicans* en placas Chrom-Agar en cada grupo de ratas (5 ratas por grupo).

Duración en días	2	5	7	10	13	15	17	20	23	25
Control	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>C. albicans</i>	14,75 ±5,12	16,25 ±1,43	35± 9,5	49,71± 13,51	48,4± 15,53	20,8 ±9,55	26 ±6,98	16 ±5,37	15,6 ±11,8	10,6 ±4,01
<i>C. albicans</i> + fluconazol	5,25 ±1,37	25 ±6,5	42 ±5,18	17 ±5,29	7 ±2,5	34,45 ±5,26	24,4 ±9,7	8,8 ±4,33	11,8± 7,55	11,6 ±4,97

Por lo tanto, se puede concluir que:

- la administración de *C. albicans* conduce a una infección progresiva de la mucosa vaginal que comienza el día 2 con una intensidad máxima el día 12 seguida de una fase de eliminación espontánea; el día 12 se considera el tiempo óptimo para la infección de *C. albicans* en este modelo;

- la administración de fluconazol conduce a una ausencia de infección por *C. albicans* el día 12 con la presencia de un pequeño número de *C. albicans* en la mucosa vaginal observada el día 7.

- Otra forma de expresar los resultados es calcular el área bajo de la curva (ABC) entre el día 2 y el día 12, que representa un marcador cuantitativo de la presencia de *C. albicans* viables en la mucosa vaginal de ratas que reciben o no fluconazol.

El tratamiento con fluconazol disminuye en 36% el número de *C. albicans* viables en los primeros 12 días después de la infección.

- Así *C. albicans* conduce a una infección vaginal progresiva con un pico de intensidad en el día 12. El tratamiento antimicótico con el fungicida fluconazol conduce a una bajada del 36% en la infección de la mucosa vaginal y una prevención de la candidiasis vaginal el día 12. Estos resultados se muestran en la figura 1.

Enemas vaginales líquidos correspondientes a la eliminación de *C. albicans*

La Tabla 2 a continuación muestra el número de UFC de *C. albicans* determinado a partir de enemas vaginales.

Duración en días	2	5	7	10	13	15	17	20	23	25
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	34	20	35	15	38	8	8	3	5	0
<i>C. albicans</i> + fluco	9	53	17	3	1	6	7	3	1	4

- Por lo tanto, se puede concluir que las *C. albicans* viables (UFC) se liberan regular y constantemente en enemas vaginales entre el día 2 y el día 16 (aproximadamente 30 UFC).

El tratamiento con fluconazol aumenta la liberación de *Candida* durante los primeros 8 días después de la infección con un pico de intensidad el día 5.

- Otra forma de expresar los resultados es calcular el área bajo la curva (ABC) entre el día 2 y el día 12, que es un marcador cuantitativo de la eliminación de *C. albicans* viables en el enema vaginal de ratas que reciben o no fluconazol.

En otras palabras, el valor del ABC es un valor representativo del número de *C. albicans* viables encontradas en la mucosa vaginal de ratas.

La actividad anti-micostática del fluconazol reduce en 20% la eliminación de las *C. albicans* viables entre los días 2 a 12 en ratas tratadas respecto a ratas no tratadas (véase la figura 2).

El tratamiento con fluconazol aumenta la eliminación de las *C. albicans* viables en 45% en la primera semana después de la infección.

- 5 Si el experimento se divide en diferentes etapas, se observa que el fluconazol induce en primer momento una liberación rápida y elevada de *C. albicans* en el enema vaginal (días 2-5 y 5-7) con relación a las ratas no tratadas (véase la figura 2).

- 10 De hecho, el tratamiento con fluconazol induce una liberación de *C. albicans* dos veces más importante (73%) que la liberación natural (34,6%) observada en ratas infectadas, pero no tratadas (34,6%) entre los días 2 a 5, lo que indica que el efecto de fluconazol es temprano o precoz.

El antígeno con estructura manosídica se cuantifica utilizando tiras no comerciales en enemas vaginales reunidos de 5 ratas.

- 15 La cantidad de antígenos con estructura manosídica es menor en ratas tratadas con fluconazol que en ratas no tratadas. La diferencia más importante en la cantidad de antígeno se observa el día 13 en las ratas infectadas y tratadas con fluconazol en comparación con ratas infectadas y no tratadas (véase la figura 3).

Análisis citológico a partir de enemas vaginales.

Se preparan portaobjetos con enemas vaginales reunidos y se realiza una tinción con MGG para evaluar el aspecto de las células epiteliales vaginales, la presencia de bacterias y levaduras y la presencia de células proinflamatorias.

- 20 El día 2, las muestras de control se caracterizan por la presencia de células epiteliales vaginales normales, sin presencia de células inflamatorias. La principal diferencia con ratas infectadas por *C. albicans* es la presencia de un gran número de neutrófilos polinucleares (NPN) y algunos eosinófilos que indican el estado inflamatorio inducido por infección por *C. albicans*.

El tratamiento con fluconazol previene la infiltración inflamatoria. La presencia de algunas *C. albicans* se observa que corresponden probablemente a la liberación creciente de la levadura por el tratamiento.

- 25 El día 12 después de la infección por *C. albicans*, se obtienen observaciones similares en el grupo de control en comparación con las observaciones del día D2. En el grupo infectado por *C. albicans*, se observa la presencia de un gran número de macrófagos y algunos neutrófilos, lo que indica que *C. albicans* está bien establecida e induce inflamación. En ratas tratadas con fluconazol, no se observa ninguna *C. albicans* y solo están presentes unos pocos macrófagos y neutrófilos.

30 **Conclusión**

Se validan el modelo de infección vaginal por *C. albicans* y los diferentes métodos para analizar este modelo.

El efecto terapéutico de un tratamiento se puede analizar de manera óptima el día D12 después de la infección por *C. albicans*.

Eficacia de la levadura Sc I-3856

- 35 Los efectos terapéuticos preventivos y/o curativos de la levadura Sc I-3856 se evalúan en el modelo de candidiasis vaginal desarrollado anteriormente y se comparan con el efecto del fluconazol administrado de modo curativo (1 h, 24 h y 48 h después de la infección por *C. albicans*). Para el modo preventivo, la levadura Sc I-3856 se administra 48 h, 24 h y 1 h antes de la infección por *Candida* y una vez cada 7 días después de la infección por *C. albicans*.

- 40 El número de *C. albicans* (en UFC) se determina a partir de frotis cervicouterinos y enemas vaginales como se describió anteriormente.

Los resultados se recopilan en la Tabla 3 a continuación.

Duración en días	2	5	7	10	13	15	17	20	23	25
Control	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>C. albicans</i>	14,75 ±5,12	16,25 ±1,43	35 ±9,5	49,71 ±13,51	48,4 ±15,53	20,8 ±9,55	26 ±6,98	16 ±5,37	15,6 ±11,8	10,6 ±4,01

<i>C. albicans</i> + fluco	5,25 ±1,37	25 ±6,5	42 ±5,18	17 ±5,29	7 ±2,5	34,45 ±5,26	24,4 ±9,7	8,8 ±4,33	11,8 ±7,55	11,6 ±4,97
<i>C. albicans</i> + Levadura Sc I-3856 Preventivo	29,25 ±12,68	19,5 ±3	53,42 ±7,22	14,42 ±3,38	17,8 ±5,8	21,2 ±3,54	12,2 ±2,08	15,4 ±5,04	22,8 ±7,41	18 ±3,76
<i>C. albicans</i> + Levadura Sc I-3856 Curativo	18 ±4	24,75 ±8,375	36,71 ±10,57	30,14 ±11,20	33,6 ±13,92	20,8 ±9,55	13,6 ±7,76	11,6 ±2,72	9,2 ±2,65	8,4 ±1,36

En cuanto al análisis de los frotis cervicouterinos y al número creciente de células de *C. albicans* en las placas Chrom-Agar, se observa el día D13 una fuerte reducción en las UFC en las ratas infectadas tratadas con la levadura Sc I-3856 en un tratamiento preventivo con respecto a las ratas infectadas no tratadas, con 17,8 ($\pm 5,85$) frente a 48,4 ($\pm 15,53$) respectivamente lo que corresponde a una disminución del 63% de las infecciones el día D13.

- 5 Por lo tanto, el tratamiento de ratas con la levadura Sc I-3856 reduce el número de *C. albicans* viables en la mucosa vaginal en 30% con respecto a los animales no tratados.

La Tabla 4 a continuación representa los valores del ABC desde el día D2 hasta el día D13.

Tratamiento	Valores del ABC (D2 a D13)	Diferencia
<i>C. albicans</i>	372,43	
<i>C. albicans</i> + Fluconazol	236,875	135,555
<i>C. albicans</i> + Levadura Sc I-3856 Preventivo	296,68	75,75
<i>C. albicans</i> + Levadura Sc I-3856 Curativo	320,945	51,485

Se puede concluir que los tratamientos preventivos con la levadura Sc I-3856 tienen un efecto similar al fluconazol al reducir los valores del ABC en 20% y 36% respectivamente con respecto a las ratas no tratadas.

- 10 La Tabla 5 a continuación se refiere a los resultados relativos al crecimiento de las UFC de *C. albicans* a partir de enemas vaginales.

Duración en días	2	5	7	10	13	15	17	20	23	25
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	34	20	35	15	38	8	8	3	5	0
<i>C. albicans</i> + fluco	9	53	17	3	1	6	7	3	1	4
<i>C. albicans</i> + Sc I-3856 Preventivo	110	25	3	4	7	20	3	18	9	6

<i>C. albicans</i> + Sc I-3856 Curativo	77	3	3	3	7	20	7	8	5	4
--	----	---	---	---	---	----	---	---	---	---

Como se ha descrito anteriormente en el modelo de candidiasis vaginal, los resultados se pueden separar en dos fases, a saber, una primera etapa los días D2-D5 correspondientes a una liberación fuerte de *C. albicans* y una segunda etapa el día D13.

- 5 El análisis de los resultados el día D13 después de la infección por *C. albicans* muestra una fuerte disminución del número de *C. albicans* viables presentes en los enemas vaginales con fluconazol y la levadura Sc I-3856 (tratamiento preventivo y curativo) con respecto a las ratas infectadas sin tratamiento (1 para fluconazol y 7 para levadura Sc I-3856 frente a 38 en las ratas infectadas no tratadas).

- 10 La administración de la levadura Sc I-3856 (en tratamiento preventivo o curativo) se caracteriza por una rápida liberación de *C. albicans* viables en de los 5 días posteriores a la infección, lo que sugiere que la levadura Sc I-3856 puede limitar la adherencia/invasión de *C. albicans* en la mucosa vaginal. La tasa de eliminación de *C. albicans* es más rápida con levadura Sc I-3856 que con fluconazol.

La Tabla 6 a continuación representa los valores de ABC (= marcador cuantitativo de la presencia de *C. albicans* en la mucosa vaginal de ratas) desde el día D2 hasta el día D13.

Tratamiento	Valores de ABC (D 2-13)
<i>C. albicans</i>	290,5
<i>C. albicans</i> + fluconazol	199
<i>C. albicans</i> + Levadura Sc I-3856 Preventivo	257,6
<i>C. albicans</i> + Levadura Sc I-3856 Curativo	150

- 15 El análisis de los valores del ABC muestra un efecto más elevado de la levadura Sc I-3856 cuando se administra como tratamiento curativo después de la infección por *C. albicans*, reduciendo 2 veces el valor de ABC correspondiente a un número inferior de *C. albicans* presente en los enemas vaginales, con 150 frente a 290.5 respectivamente.

La levadura Sc I-3856 administrada como tratamiento curativo tiene un mayor efecto sobre la infección por *C. albicans* que el inducido por fluconazol, con 150 frente a 199 respectivamente.

- 20 Si los diferentes períodos del experimento se separan respectivamente en los días D2-D5, D5-D7 y D7-D13, se observa en la primera fase del tratamiento (D2-D5) que la administración de la levadura Sc I-3856 en el tratamiento preventivo induce una fuerte liberación de *C. albicans* (véase la figura 4).

- 25 Por lo tanto, es muy probable que la levadura Sc I-3856, cuando se administra como tratamiento preventivo, inhiba la adherencia de *C. albicans* a la mucosa vaginal. Luego solo crecen unas pocas *C. albicans* (a partir del día D5 hasta el día D13) (véase la Figura 4).

El cálculo del porcentaje de UFC de *C. albicans* que crecen en la primera fase del experimento justo después de la infección por *C. albicans* (D2-D5), muestra que el 88% de las UFC se detectan en el tratamiento preventivo con la levadura Sc I-3856, el 82% de las UFC se detectan en el tratamiento curativo con la levadura Sc I-3856 y el 73% con el tratamiento con fluconazol.

- 30 Estos resultados indican que el tratamiento con la levadura Sc I-3856 tiene una eficacia mayor o similar a la obtenida con fluconazol para prevenir la adherencia de *C. albicans*.

Los antígenos de *C. albicans* con estructura manosídica se cuantifican en los líquidos del enema vaginal (figura 6). Se observa una buena correlación entre el número de células de *C. albicans* (que provienen de enemas vaginales) que crecen en placas Chrom-Agar y los niveles de antígenos medidos en los mismos enemas vaginales (figura 5).

Todas las células de *C. albicans* viables y muertas se miden utilizando el mismo método de inmunodetección en contraste con el método convencional de medio selectivo que permite la multiplicación de células viables de *C. albicans*.

5 Para el estudio citológico de los enemas vaginales, se preparan portaobjetos a partir de enemas vaginales reunidos y se realiza una tinción con MGG.

El aspecto de las células vaginales epiteliales, la presencia de bacterias y levaduras y la presencia de células proinflamatorias se evalúan mediante observación (resultados no mostrados).

10 El día D2, el grupo de control se caracteriza por la presencia de células vaginales epiteliales normales, sin la presencia de células inflamatorias. La principal diferencia con las ratas infectadas por *C. albicans* es la presencia de un alto número de neutrófilos polinucleares (NPN) y algunos eosinófilos que indican el estado inflamatorio inducido por infección por *C. albicans*.

El tratamiento con fluconazol impide la infiltración inflamatoria. Se observa que la presencia de algunas *C. albicans* corresponden probablemente a la mayor liberación de *C. albicans* por el tratamiento.

15 El día D12 después de la infección por *C. albicans*, se obtienen observaciones similares en el grupo de control con respecto al día D2. En ratas infectadas por *C. albicans*, se observa la presencia de un gran número de macrófagos y algunos neutrófilos, lo que indica que las *C. albicans* están bien implantadas e inducen inflamación. En las ratas tratadas con fluconazol, no se observa ningún *C. albicans* y se observan algunos macrófagos y neutrófilos. En las ratas tratadas con fluconazol se observa la presencia de *C. albicans*, pero no se encuentran ninguna célula inmunitaria (resultados no mostrados).

20 En las ratas tratadas de modo preventivo con la levadura Sc I-3856, se observan macrófagos, neutrófilos y eosinófilos dos días después de la infección por *C. albicans*, pero a una densidad menor que la observada en ratas infectadas por *C. albicans* (resultados no mostrados).

25 En las ratas tratadas de modo curativo con la levadura Sc I-3856, no se observan ningún macrófago ni ningún eosinófilo, pero está presente un elevado número de neutrófilos, así como se ha observado en ratas infectadas por *C. albicans*.

La presencia de *C. albicans* se observa en ratas infectadas por *C. albicans* y tratadas con fluconazol o con la levadura Sc I-3856 (en tratamiento preventivo o curativo), pero no se observa en las ratas infectadas por *C. albicans* y no tratadas, lo que demuestra la eficacia del tratamiento que induce la liberación o la prevención de la adherencia de *C. albicans* a la mucosa vaginal.

30 El día D12 después de la infección por *C. albicans* se obtienen observaciones similares en el grupo de control respecto a las observaciones del día D2. En ratas infectadas por *C. albicans*, se observa la presencia de un gran número de macrófagos y algunos neutrófilos, lo que indica que las *C. albicans* están bien implantadas e inducen una inflamación. En ratas tratadas con fluconazol, no se observa ningún *C. albicans* y se observan algunos macrófagos y neutrófilos.

35 En ratas tratadas de modo preventivo con la levadura Sc I-3856, no se observa ningún macrófago, pero se observa la presencia de neutrófilos.

40 En las ratas tratadas de modo curativo con la levadura Sc I-3856, se observa la presencia de macrófagos y neutrófilos. Sin embargo, en comparación con las ratas infectadas por *C. albicans*, se observan menos macrófagos, lo que indica una disminución de la inflamación debido a la administración de la levadura Sc I-3856 (resultados no mostrados).

Conclusión

45 La firma solicitante ha desarrollado un nuevo modelo de candidiasis vaginal en la rata hembra. La intensidad máxima de la infección vaginal se observa 12 a 13 días después de la administración de *Candida albicans*. El control positivo con el tratamiento antimicótico con fluconazol permite prevenir completamente la infección por *Candida albicans* 12 días después de dicha administración y aumenta la liberación de *Candida albicans* en la luz vaginal, particularmente durante los seis primeros días de la infección.

50 El tratamiento preventivo con la levadura Sc I-3856 muestra igualmente un fuerte efecto terapéutico que permite reducir la infección vaginal 12 a 13 días después de la administración de *Candida albicans* en más del 60% de las ratas tratadas en comparación con las ratas no tratadas. Este efecto preventivo se debe probablemente a una liberación rápida de *Candida albicans* en la luz vaginal, que tiene lugar durante los 4 primeros días después de la infección por *Candida albicans*.

El tratamiento curativo es igualmente eficaz, pero sin embargo tiene una eficacia ligeramente menor con respecto a la del tratamiento preventivo.

En comparación con el tratamiento con fluconazol, el tratamiento preventivo con la levadura Sc I-3856 conduce a una liberación más rápida de *Candida albicans* en la luz vaginal de ratas que presentan una candidiasis vaginal.

- 5 La disminución de *Candida albicans* viables en la mucosa vaginal de ratas después de 12 a 13 días es importante en los dos grupos de ratas tratadas con fluconazol o con la levadura Sc I-3856 respectivamente, aunque ligeramente superior a la del tratamiento con fluconazol. Esta disminución ligeramente superior se debe probablemente al efecto antimicótico de la molécula de fluconazol.

REIVINDICACIONES

1. Cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada en la CNCM con el número I-3856, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales.
- 5 2. Levadura obtenida por cultivo de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada en la CNCM con el número I-3856, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales.
3. Levadura para uso según la reivindicación 2, presentándose dicha levadura en forma de levadura fresca o en forma de levadura seca.
4. Levadura para uso según la reivindicación 3, presentándose dicha levadura en forma de levadura seca activa o levadura seca instantánea.
- 10 5. Levadura para uso según la reivindicación 2, presentándose dicha levadura en forma de levadura muerta.
6. Derivado de la levadura obtenida por cultivo de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada en la CNCM con el número I-3856, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales, eligiéndose dicho derivado entre la pared de dicha levadura, los glucanos parietales de dicha levadura, las manoproteínas parietales de dicha levadura o sus mezclas.
- 15 7. Cepa, levadura o derivado para un uso según una de las reivindicaciones 1 a 6, en la que o el que la micosis vaginal es una candidiasis vaginal.
8. Cepa, levadura o derivado para un uso según la reivindicación 7, en la que o el que la candidiasis vaginal se debe a hongos seleccionados del grupo que comprende *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* y sus mezclas.
- 20 9. Composición que comprende una levadura obtenida por cultivo de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* depositada en la CNCM con el número I-3856 y/o un derivado de dicha levadura, eligiéndose dicho derivado entre la pared de dicha levadura, los glucanos parietales de dicha levadura, las manoproteínas parietales de dicha levadura o sus mezclas, y opcionalmente al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para un uso en la prevención y/o el tratamiento de micosis vaginales.
- 25 10. Composición para un uso según la reivindicación 9, que está destinada para administración por vía oral o por vía vaginal.
11. Composición para un uso según la reivindicación 9 o 10, en la que dicha levadura está en forma de levadura muerta y se administra diariamente en una cantidad de 1 mg a 10 g, y preferiblemente de 100 mg a 1 g.
- 30 12. Composición para un uso según la reivindicación 9 o 10, en la que dicha levadura está en forma de levadura seca o levadura fresca, y se administra diariamente en una cantidad de 1.10^7 a 1.10^{11} UFC, y preferiblemente de 1.10^9 a 1.10^{10} UFC.
13. Composición para un uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, que comprende dicha levadura y/o dicho derivado en asociación con otro principio activo.
- 35 14. Composición para un uso según la reivindicación 13, en la que el otro principio activo se elige del grupo de principios activos que tienen una actividad calmante, antiirritante, analgésica, antiálgica, antiinflamatoria, cicatrizante, antifúngica, antimicótica y/o antimicótica.

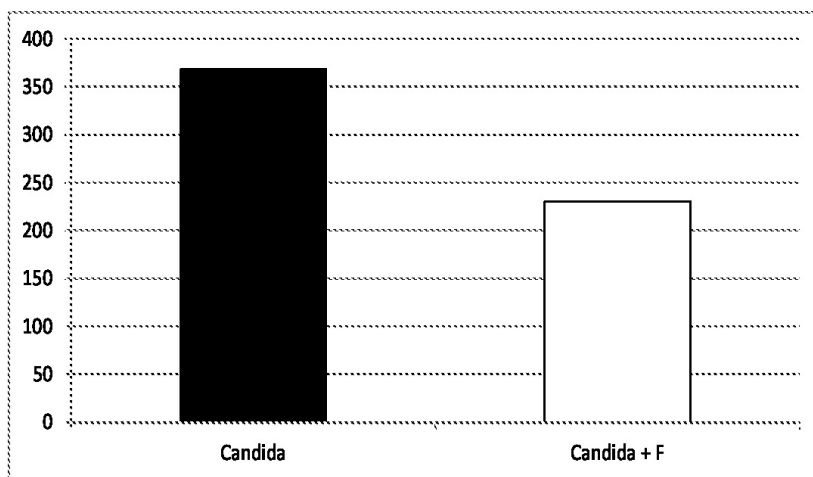


Figura 1

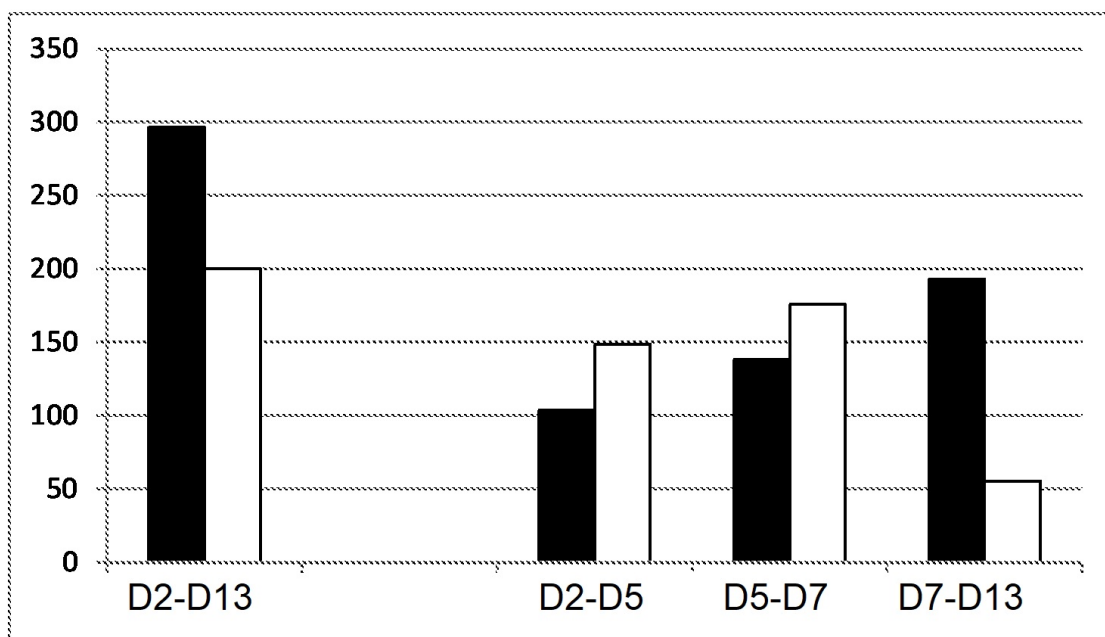


Figura 2

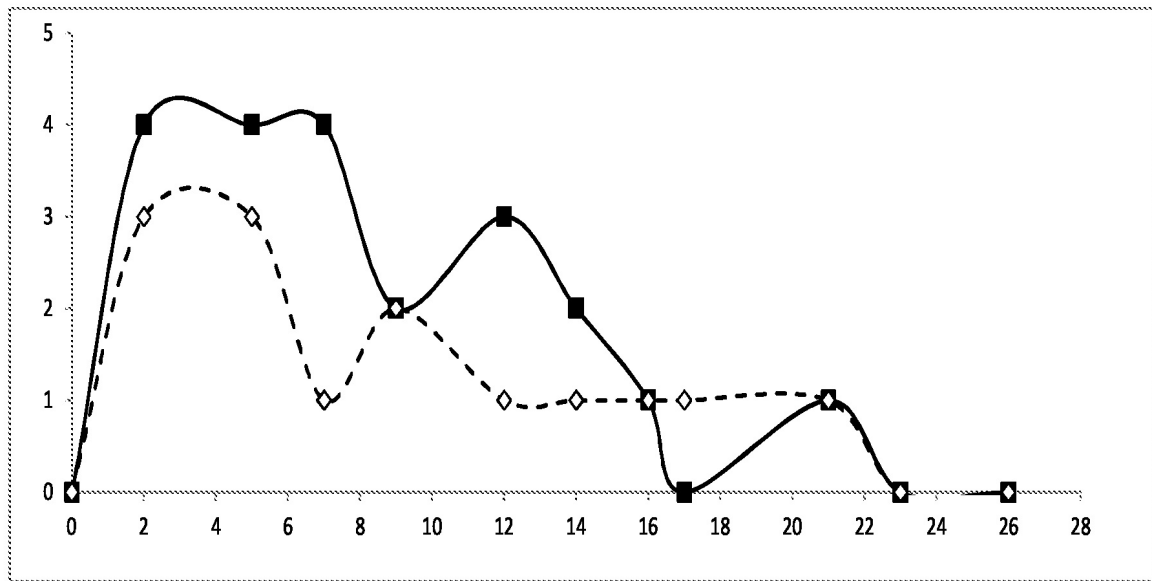


Figura 3

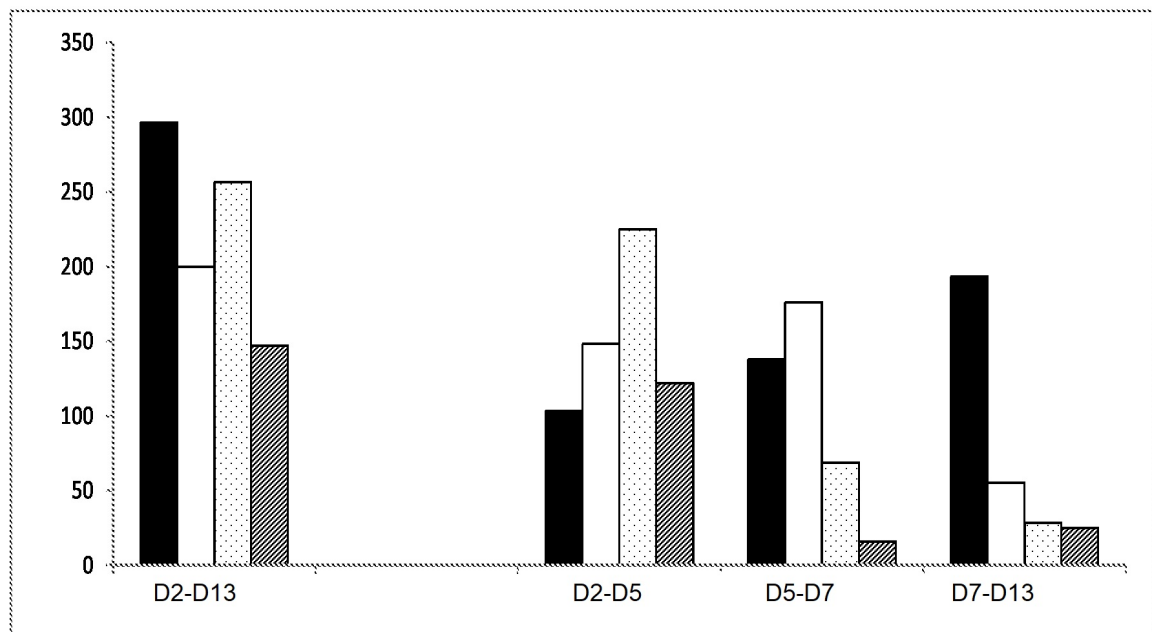


Figura 4

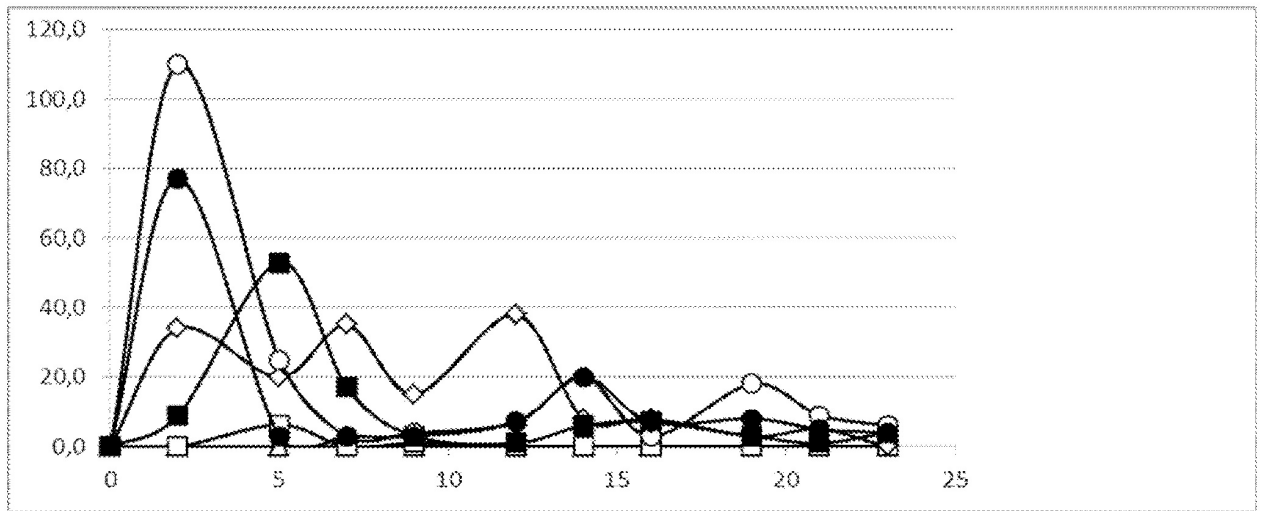


Figura 5

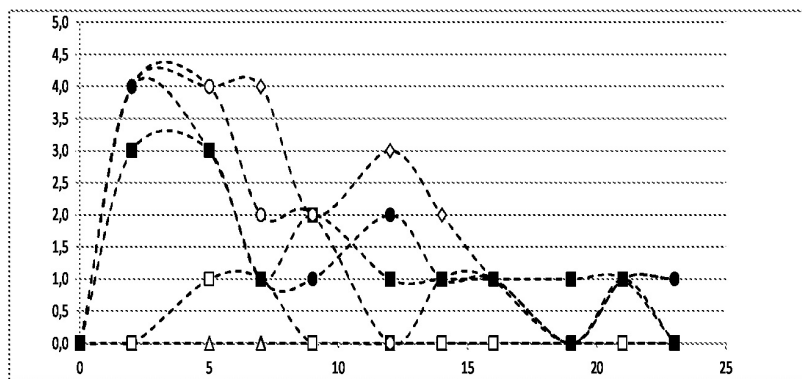


Figura 6