

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780044506.0

[51] Int. Cl.

A61K 35/74 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 9 月 30 日

[11] 公开号 CN 101547700A

[22] 申请日 2007.11.29

[21] 申请号 200780044506.0

[30] 优先权

[32] 2006.12.1 [33] EP [31] 06024920.8

[86] 国际申请 PCT/EP2007/010388 2007.11.29

[87] 国际公布 WO2008/064893 英 2008.6.5

[85] 进入国家阶段日期 2009.6.1

[71] 申请人 有机金属平衡有限公司

地址 德国柏林

[72] 发明人 A·赖因德 C·朗 M·维恩

A·海尔曼 M·波特纳

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 林柏楠

权利要求书 4 页 说明书 149 页 附图 12 页

[54] 发明名称

保护皮肤对抗病原微生物的组合物、药盒和用途

[57] 摘要

描述了组合物和药盒，其包含(i)微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和(ii)微生物，其能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长，以便保护皮肤抵抗病原微生物和治疗皮肤疾病。本发明还涉及上述微生物的用途和生产包含此类微生物的组合物和药盒的方法。

1. 组合物，其包含(i)微生物，该微生物能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和(ii)微生物，该微生物能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长。

2. 权利要求1的组合物，其是化妆品组合物，任选包含化妆品可接受的载体或赋形剂。

3. 权利要求1的组合物，其是药物组合物，任选包含药学上可接受的载体或赋形剂。

4. 药盒，其包含(i)微生物，该微生物能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和(ii)微生物，该微生物能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长。

5. (i)能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长的微生物和(ii) 能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的微生物的组合的用途，用于制备保护皮肤对抗病原细菌的化妆品组合物或药物组合物。

6. (i)能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长的微生物和(ii) 能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的微生物的组合的用途，用于制备预防或治疗皮炎的药物组合物。

7. 权利要求7的用途，其中所述皮炎为特应性皮炎、银屑病、野葛皮炎、疱疹性湿疹、脓癣或疥疮。

8. (i)能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的微生物和(ii)能够抑制暂居病原皮

肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的微生物的用途，用于制备治疗皮肤微生物的不利的病原比例的药物组合物。

9. 权利要求 8 的用途，其中治疗皮肤微生物的不利的病原比例包括再平衡皮肤微生物菌群。

10. 权利要求 1 到 3 任一项的组合物、权利要求 4 的药盒或权利要求 5 到 9 任一项的用途，其中(i)中定义的能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的微生物能够刺激表皮葡萄球菌的生长。

11. 权利要求 10 的组合物、药盒或用途，其中所述微生物能够在体外刺激表皮葡萄球菌的生长。

12. 权利要求 10 或 11 的组合物、药盒或用途，其中所述微生物能够在原位皮肤测定中刺激表皮葡萄球菌的生长。

13. 权利要求 1 到 3 或 10 到 12 任一项的组合物、权利要求 4 或 10 到 12 任一项的药盒或权利要求 5 到 12 任一项的用途，其中(i)中定义的能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的微生物不刺激金黄色葡萄球菌的生长。

14. 权利要求 1 到 3 任一项的组合物、权利要求 4 的药盒或权利要求 5 到 9 任一项的用途，其中(ii)中定义的能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的微生物能够抑制金黄色葡萄球菌的生长。

15. 权利要求 14 的组合物、药盒或用途，其中所述微生物能够在体外抑制金黄色葡萄球菌的生长。

16. 权利要求 14 或 15 的组合物、药盒或用途，其中所述微生物能够在体外液体测定中抑制金黄色葡萄球菌的生长。

17. 权利要求 14 到 16 任一项的组合物、药盒或用途，其中所述微生物能够在原位皮肤测定中抑制金黄色葡萄球菌的生长。

18. 权利要求 1 到 3 或 14 到 17 任一项的组合物、权利要求 4 或 14 到

17 任一项的药盒或权利要求 5 到 7 或 14 到 17 任一项的用途,其中(ii)中定义的能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长的微生物不抑制表皮葡萄球菌的生长。

19. 权利要求 1 到 3 或 10 到 13 任一项的组合物、权利要求 4 或 10 到 13 任一项的药盒或权利要求 5 到 13 任一项的用途,其中(i)中定义的能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的微生物是属于乳杆菌属的微生物。

20. 权利要求 19 的组合物、药盒或用途,其中所述乳杆菌是副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)或发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)。

21. 权利要求 20 的组合物、药盒或用途,其中所述副干酪乳杆菌为副干酪乳杆菌副干酪亚种。

22. 权利要求 20 或 21 的组合物、药盒或用途,其中所述乳杆菌选自具有 DSMZ 保藏号 DSM 17248、保藏号 DSM 17247、保藏号 DSM 17250 和保藏号 DSM 17249 的副干酪乳杆菌、短乳杆菌或发酵乳杆菌或其突变体或衍生物,其中所述突变体或衍生物保留了刺激固有皮肤微生物菌群的至少一种微生物生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的能力。

23. 权利要求 1 到 3 或 14 到 22 任一项的组合物、权利要求 4 或 14 到 22 任一项的药盒或权利要求 5 到 7 或 14 到 22 任一项的用途,其中(ii)中定义的能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的微生物属于乳杆菌属。

24. 权利要求 23 的组合物、药盒或用途,其中所述乳杆菌是布氏乳杆菌(*Lactobacillus buchneri*)或德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrückii*)。

25. 权利要求 24 的组合物、药盒或用途,其中所述德氏乳杆菌是德氏乳杆菌德氏亚种。

26. 权利要求 24 或 25 的组合物、药盒或用途,其中所述乳杆菌选自具有 DSMZ 保藏号 DSM 18007 和保藏号 DSM 18006 的布氏乳杆菌和德氏

乳杆菌德氏亚种或其突变体或衍生物，其中所述突变体或衍生物保留了抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的能力。

27. 权利要求 1 到 3 或 8 到 26 任一项的组合物、权利要求 4 或 8 到 26 任一项的药盒或权利要求 5 到 26 任一项的用途，其中所述(i)和/或(ii)中定义的微生物为无活性形式。

28. 权利要求 27 的组合物、药盒或用途，其中所述无活性形式为热灭活的或冻干的形式。

29. 生产权利要求 1 到 3 或 8 到 28 任一项的组合物或权利要求 4 或 8 到 28 任一项的药盒的方法，其包括配制所述(i)和(ii)中定义的微生物与化妆品或药学上可接受的载体或赋形剂的步骤。

保护皮肤对抗病原微生物的组合物、药盒和用途

本发明涉及组合物和药盒，其包含：

(i) 微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和

(ii) 微生物，其能够抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长，以便保护皮肤抵抗病原微生物和治疗皮肤疾病。本发明还涉及上述微生物的用途和生产包含此类微生物的组合物和药盒的方法。

人皮肤上定居着大量多样的微生物，其主要在相对稳定的组合物中作为共生体在皮肤表面生存(Roth 和 James, 1988)。此类正常的皮肤菌群被称为“固有皮肤菌群”。人皮肤的主要功能是保护其下面的组织对抗环境影响(Feingold, 1985)。此类正常的皮肤菌群特别保护皮肤对抗可能的病原微生物入侵(Bisno, 1984)。某些微生物在固有菌群中占优势。大于 90% 的固有微生物菌群为表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) (凝固酶阴性)、某种微球菌(*Micrococcus spec.*)、类白喉菌(*Diphtheroids*)和丙酸杆菌(*propionibacteria*) (Leyden 等人, 1987)。因此，天然皮肤菌群的稳定支持皮肤的保护作用和预防病原入侵。增强皮肤的健康。在一些临床研究中已描述了天然皮肤菌群的重要性。已显示在婴儿出生后最初几天，这类皮肤菌群还未发展，因此金黄色葡萄球菌感染的危险非常高。随着菌群的渐增发展，皮肤可防御病原微生物的定居(Hurst, 1959)。在另一个关于婴儿的研究中，观察到用抗生素羟氨苄青霉素处理以后，固有菌群被严重抑制(约 50%)。这导致致病酵母白色念珠菌(*Candida albican*)产生大于 14 倍的增加。抗生素处理的终止会导致固有菌群恢复和白色念珠菌阻遏(Brook, 2000)。

固有皮肤菌群的微生物通过竞争皮肤表面的附着位点和必需营养来防御病原微生物的定居(Sullivan 等人 2001)。病原微生物能够通过特异结合蛋白质附着于表皮结构。在本发明中已知不同的机制。例如已知来自金黄色葡萄球菌的特异黏附素。这些允许病原微生物附着于纤连蛋白结构。病原体通常具有附着于宿主的较高可能性。这说明了这些微生物的毒性(Gibbons 和 Houte, 1975)的。当皮肤表面有微小损伤或其它损坏时, 特别当正常皮肤菌群被抗生素或过度洗涤而损害时, 病原微生物定居的危险就会急剧增加(Elek, 1956)。然而, 关于营养利用的方面, 固有皮肤菌群能更好地适应于皮肤。这是固有皮肤菌群的优势(Larson, 2001)。除此之外, 固有皮肤菌群的有机体能够产生抵抗病原微生物的抗菌物质。这也是固有微生物关于营养和能量来源方面的优势(Selwyn 和 Ellis, 1972; Milyani 和 Selwyn, 1978)。

而且, 皮肤分泌的物质, 如复合脂(甘油三酯), 被降解为抑制病原微生物的不饱和脂肪酸, 其中病原微生物是例如致热链球菌(*Streptococcus pyrogenes*)或革兰氏阴性细菌和真菌(Aly 等人, 1972)。

微生物皮肤菌群影响几个化妆品相关的皮肤因素。包括皮肤的 pH 值、屏障功能和脂类含量。表皮葡萄球菌能够通过降低 pH 值(约 4-6)而对抗病原微生物。在降低的 pH 值条件下病原体不能生长(Korting 等人, 1990; Lukas, 1990; Korting, 1992; Yosipovitch 和 Maibach, 1996; Gfatter 等人, 1997)。

皮肤的水屏障功能和脂类含量依赖于角质层的神经酰胺含量(Imokawa 等人, 1986)。神经酰胺含量降低会引起皮肤干燥和开裂。对皮肤具有这些表现的特应性皮炎(atopical dermatitis)患者的研究显示微生物皮肤菌群戏剧性地改变为金黄色葡萄球菌。此类病原体的特征是有非常高的神经酰胺酶活性, 而正常的固有皮肤菌群共生体则不具有此类活性。在皮肤中产生释放神经酰胺的鞘磷脂酶活性在特应性皮炎患者的固有和病原菌群中是相似的(Ohnishi 等人, 1999)。通常, 特应性皮炎(AD)患者的细菌性皮肤菌群不同于健康人。此类患者通常遭受微生物感染, 如脓疱病、毛

囊炎或疖病。特应性皮炎患者的微生物菌群在金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的存在方面显示出显著不同。金黄色葡萄球菌在正常皮肤部位上定居的相对罕见性与特应性皮炎患者中发现的高载有率形成鲜明对比，特应性皮炎患者的载有率为未受影响的区域上的75%到急性、渗液性伤口上的高达99%。皮肤上金黄色葡萄球菌定居的强烈增加伴随着固有皮肤微生物菌群的共生微生物，特别是表皮葡萄球菌数目的降低。

从而，需要保护皮肤，特别是人类皮肤抵抗病原微生物和治疗皮肤疾病如特应性皮炎的组合物、药盒和用途。

本发明解决了该需要并且提供了保护皮肤抵抗病原微生物定居的组合物、药盒和用途。具体地，提供了如权利要求书中表征的实施方案。本发明的主题例如可通过重新平衡皮肤微生物菌群用于治疗皮肤疾病。

因此，本发明涉及组合物和药盒，其包含：

(i) 微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和

(ii) 微生物，其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长。

本发明还涉及上述微生物的用途。

发明人惊奇地发现可以通过向皮肤施用上述组合物或药盒或通过应用其相应的用途来实现皮肤对抗病原微生物定居的有效保护。本发明的组合物、药盒和用途包括或指两种不同类型微生物的组合，(i) 微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长而不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长(下文描述为本发明的方面(i))和(ii)微生物，其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长(下文描述为本发明的方面(ii))。发明人惊奇地发现通过施用或使用此类微生物的组合可以实现保护皮肤抵抗病原微生物的定居。发明人还发现通过施用或使用此类微生物的组合，皮肤的微生物可以有效重新平衡，尤其在短时间尺度内重新平衡。

如上述的方面(i)的微生物，即能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物生

长的那些微生物，由于特异性刺激固有皮肤微生物菌群的生长，因而能够再生和稳定天然皮肤菌群。这样使病原微生物的生长受到抑制。此外，可以防护病原微生物进入皮肤菌群。当在皮肤较上层的微生物通过洗涤被除去时，本发明的微生物允许例如刺激在皮肤更深的角质层的固有菌群。

如上述的方面(ii)的微生物，即能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长的那些微生物能够差别抑制皮肤上微生物的生长，即，它们选择性抑制病原微生物的生长，但是不影响健康共生微生物菌群的居住者的生长。从而，这些微生物能够再生并稳定天然皮肤菌群。

在皮肤上存在着许多不同的微生物。一些属于皮肤正常(固有)菌群，是无害共生体，而一些是可能的病原体。

基本上，皮肤上的有机体可以分为两类：1. 固有有机体：固有有机体永久定居于皮肤上，其定居在皮肤表面、角质层和表皮外层及皮肤和毛囊的深缝中。这些固有皮肤菌群的微生物能够在皮肤上生长和繁殖，不侵入或破坏皮肤组织。较深皮肤区域中的这些有机体并不能通过洗涤轻易除去。固有微生物是无害共生体。

2. 暂居有机体：暂居有机体是置于皮肤上、但是不在那里繁殖的微生物，或者在皮肤上繁殖和短期存在的污染物。它们不能永久存在于健康皮肤上，健康皮肤的微环境主要由固有菌群所决定。暂居有机体是可能的病原体。

因此，术语“固有皮肤菌群”指能够在健康皮肤上发现的微生物，优选人皮肤，并且其组成多数的皮肤上发现的微生物。

具体地，术语“固有皮肤菌群”指永久定居在皮肤表面、角质层和表皮外层及皮肤和毛囊的深缝中的微生物。这些微生物的特征在于它们能在皮肤上生长和繁殖，不侵入或破坏皮肤组织。这些微生物的一个特征是在较深皮肤区域中不能通过洗涤轻易除去。固有皮肤菌群的微生物是无害共生体。

术语“固有皮肤菌群”优选指在皮肤上(优选人皮肤)发现的需氧和厌氧微生物菌群。更优选地，其指由表皮葡萄球菌(凝固酶阴性)、某种微球菌、

类白喉菌和丙酸杆菌组成的微生物菌群。通常，约 90% 的需氧固有皮肤菌群由表皮葡萄球菌组成。剩余的约 10% 主要由某种微球菌(80 % 藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*))和类白喉菌(13 %)组成。术语“类白喉菌”指广范围的属于棒杆菌(*Corynebacterium*)属的细菌。出于方便，表皮类白喉菌分为如下 4 组：亲脂或非亲脂的类白喉菌；厌氧的类白喉菌；产吡啶的类白喉菌。厌氧皮肤菌群的主要代表(90%)是丙酸杆菌；特别疮疱丙酸杆菌(*Propionibacterium acnes*)、颗粒丙酸杆菌(*P. granulosum*)和贪婪丙酸杆菌(*P. avidum*)可以从皮肤中分离出来。厌氧菌群占整个固有皮肤菌群的大约 4%。

更优选地，大于 90% 的微生物菌群属于表皮葡萄球菌、某种微球菌、类白喉菌和丙酸杆菌。甚至更优选地，固有皮肤菌群的特征在于其主要成分是表皮葡萄球菌。

微生物皮肤菌群的成分和组分可以通过例如用苏格兰胶带剥离上层皮肤来定量和定性地确定。固有皮肤菌群的微生物可以通过例如用苏格兰胶带剥离的 10 层以内上层皮肤来鉴定。可作为范例的，将 6 个 2 cm² 的苏格兰胶带分别按在皮肤的确定区域(优选在前臂上)来分离这些微生物，然后每个胶带的剥离物从皮肤转移到用于革兰氏阳性(例如 BHI, Difco Inc.)或者革兰氏阴性细菌的选择性琼脂培养平板上(例如麦康基琼脂, Difco Inc.)，或者转移到酵母和真菌的选择性琼脂培养基上(例如平板计数琼脂, Difco Inc.)。之后从皮肤转移到琼脂培养平板上的微生物在 30℃ 和 37℃、需氧和厌氧条件下培养约 24 小时。通过形态学和生物化学方法进行定性分析和定量计数来确定菌落形成单位。确定相对的组合物和总细胞计数。本领域技术人员能够通过本领域内已知的方法确定如上所述分离的固有皮肤微生物菌群的属和/或种。例如，本领域内技术人员可以通过代谢足迹法、脂肪酸组合物和细胞壁组成等等来鉴定所述微生物。

术语“皮肤”指身体的外罩，其为本领域技术人员公知的。优选地，该术语指三层：表皮、真皮和皮下脂肪组织。表皮是皮肤的最外层。其通常在身体外表面形成防水的防护层，且由具有下基底膜的复层扁平上皮构

成。其通常不含有血管，且通过从真皮扩散而获得营养。组成表皮的主要细胞类型是角质形成细胞，也存在黑色素细胞和朗氏细胞。表皮被分为几层，其中细胞通过最内层的有丝分裂而形成。它们向上层移动，在分化时改变形状和组成，且变为充满角蛋白。它们最后到达被称为角质层的最上层，并且开始脱落或脱皮。表皮的最外层由 25 到 30 层死细胞组成。一般而言，表皮分为 5 个亚层或层(从表面到深入)：角质层、透明层、颗粒层、棘层和生发层或基底层。通常，表皮和真皮的接触面是不规则的，由连续乳头或指状突起组成，其在皮肤薄的地方最小，而在掌和足底皮肤中最长。通常，掌和足底的乳头与表皮的高度相关联，其产生脊。皮下脂肪组织是皮肤的最深层。此层的特征在于其由结缔组织、血管和脂肪细胞组成。通常，此层连接皮肤与下层结构，使身体隔绝寒冷，并以脂肪的形式储存能量。一般而言皮肤在深层组织上形成对抗物理、化学和细菌物质的防护屏障。这意味着例如口腔或阴道区域或粘膜组织不属于皮肤。在优选实施方案中，术语“皮肤”指身体覆盖物的最外层，即表皮。在更优选的实施方案中，术语“皮肤”指表皮的角质层。在甚至更优选的实施方案中，术语皮肤指表皮最外面的 25 到 30 层死细胞。在最优选的实施方案中，术语“皮肤”指表皮最外面的 10 层死细胞。

术语“刺激”与固有皮肤菌群微生物菌群的生长相关联，优选与上面本文所述的方面(i) 相关联，指当与根据本发明的微生物接触时，一种或多种固有皮肤菌群微生物菌群的生长加速。生长加速优选指增殖增加，即单位时间内细胞分裂增加。可选择地，术语“刺激”也指个体细胞大小的增加。细菌细胞大小可以通过用染料 SYBR Green I (分子探针，美国)染色后用流式细胞计量法(例如 Becton-Dickinson FACSORT 流式细胞仪, San Jose, CA)来估算。细菌细胞大小用偏角光散射(SSC)模式估算。

因此生长加速指单位时间内生物量产量的增加。

优选在体外观察固有皮肤菌群微生物菌群的生长刺激，更优选用一种测定方法，其中根据本发明的微生物与一种或多种固有皮肤菌群的微生物接触，并且测定这个(这些)固有皮肤菌群的微生物的生长。可以通过在培

养的不同时间间隔进行细胞/菌落计数来测定生长,并将其与不包含如上述根据本发明的方面(i)的微生物的对照相比较,以此来确定生长是否加速。

在实施例中描述了测定生长刺激的体外测定方法,其包含所谓的“体外孔平板测定”。简言之,此类测定包含如下步骤:

- 培养至少一种固有皮肤菌群微生物,将其均匀涂布到预备好的包含适于各微生物生长(且优选检测)的适当琼脂培养基的琼脂平板上;

- 在接种的琼脂平板提供孔;

- 用预培养的上述根据本发明方面(i)的微生物细胞填充孔;

- 琼脂平板在允许固有皮肤菌群微生物菌群生长的条件下培养适当的时间; 和

- 检测在含有根据本发明的微生物的孔周围固有皮肤菌群微生物菌群的生长,且将其与不含上述根据本发明方面(i)的微生物的孔周围微生物的生长相比较。

可获得的测定细胞和/或菌落数的手段和方法可以影响最后一步中生长的测定,例如用适当的染料染色和/或光学手段例如光密度法、和在显微镜下细胞/菌落计数。

甚至更优选地,固有皮肤微生物菌群的生长刺激也可以在原位皮肤测定中观察。此测定方法在实施例中描述,其简要包括如下步骤:

- 培养至少一种固有皮肤微生物菌群,将其均匀涂布于测试个体的皮肤区域;

- 将上述根据本发明方面(i)的微生物的一部分准确涂布于固有皮肤微生物菌群涂布的区域之内;

- 培育足够时间以允许固有皮肤微生物菌群的生长;

- 将上层皮肤层,包括其中包含的微生物,转移到含有适当生长培养基的琼脂平板上;

- 琼脂平板在允许固有皮肤微生物菌群生长的条件下培养一段时间;

- 测定上述根据本发明方面(i)的微生物涂布区域周围的固有皮肤微生物菌群的生长,并将其与没有涂布上述根据本发明方面(i)的微生物的对照

中微生物的生长相比较。

此测定所使用的皮肤区域可能是个体的任何合适皮肤区域，优选人个体。在优选的实施方案中，其为人个体前臂的皮肤区域。区域的大小不是决定性的，优选约为 $1\text{-}40\text{ cm}^2$ ，更优选 $5\text{-}20\text{ cm}^2$ ，甚至更优选 $5\text{-}10\text{ cm}^2$ ，例如约 5、6、7、8、9 或 10 cm^2 。

将固有皮肤微生物菌群的微生物平均涂布于此区域，优选密度约为 10^2 cfu/cm^2 - 10^3 cfu/cm^2 。涂布于皮肤的微生物在空气中干燥，并将整分试样的上述根据本发明方面(i)的微生物准确涂布于该区域内。这可以通过本领域内技术人员所公知的手段来实现。例如，将根据本发明的微生物离心(15 分钟, $4000\times g$)。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液洗两次(每次 1 ml)。在 $200\text{ }\mu\text{l}$ K/Na 缓冲液中重悬细胞，并将 $10\text{ }\mu\text{l}$ 准备好的微生物用微量移液器准确应用于预接种的皮肤区域。

皮肤优选在室温培育例如 2 小时。例如在粘性胶带剥离的帮助下可以转移上层皮肤，包括其中包含的微生物。上层皮肤转移到琼脂平板中，该琼脂平板在允许所测试的微生物或固有皮肤菌群生长的温度下培养，并且使用已知支持此类微生物生长的生长培养基。通常培养约 24 小时。通过本领域内技术人员所公知的方法检测微生物的生长。优选通过光密度法或计数在涂布整分试样的本发明微生物的点附近形成的菌落来测定。细菌细胞大小可以通过用染料 SYBR Green I (分子探针, USA) 染色后用流式细胞计量法(例如 Becton-Dickinson FACSsort 流式细胞仪, San Jose, CA)来估算。细菌细胞大小用偏角光散射(SSC)模式估算。

如果在体外孔平板测定中，微生物能导致至少一种这类固有皮肤微生物菌群生长加速，使其与未加微生物的对照相比至少增加 5%，优选至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%或 70%，更优选至少 75%，和甚至更优选至少 80%，和最优选至少 85%，则此类微生物被认为是刺激一种或多种固有皮肤微生物菌群的生长。更优选地，如果在原位皮肤测定中，微生物能导致至少一种固有皮肤微生物菌群生长加速至少 5%，优选至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%或 70%，更优选至少 75%，甚至更

优选至少 80%，和最优选至少 85%，则此类微生物被认为是刺激一种或多种固有皮肤微生物菌群的生长。

在优选实施方案中，上述根据本发明方面(i)的微生物刺激固有皮肤菌群的主要代表性微生物，即表皮葡萄球菌的生长。词语“刺激生长”的含义如上所述，并优选指体外刺激，更优选在上文所描述的体外孔平板测定中。甚至更优选地，其含意为在上文所描述的原位皮肤测定中的刺激。最优选指体外以及原位测定方法中的刺激。体外孔平板测定和原位皮肤测定优选如实施例中所述执行。在优选的实施方案中，上述根据本发明方面(i)的微生物也刺激某种微球菌的生长，优选藤黄微球菌。在更优选的实施方案中，也刺激类白喉菌的生长，优选属于棒杆菌属的细菌。

在特别优选的实施方案中，上述根据本发明方面(i)的微生物刺激固有皮肤微生物菌群的所有微生物的生长。

上述根据本发明方面(i)的微生物的特征也在于其不能刺激暂居病原微生物菌群的生长。术语“暂居病原菌群”指位于皮肤上但不能繁殖的微生物，或指能在皮肤上繁殖并短期存在的污染物。具体地，如果一种微生物应用于皮肤上，不能在健康皮肤提供的环境条件下生长和复制，并且不能永久定居于此器官(或其区域)上，那么这种微生物被认为属于暂居病原菌群。某些细菌、酵母和真菌可以暂时从人皮肤分离，但是如下微生物由于它们频繁出现，明显被分类为暂居菌群：金黄色葡萄球菌、酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、革兰氏阴性杆菌(例如乙酸钙不动杆菌(*Acinetobacter calcoaceticus*))、白色念珠菌(*Candida albicans*)和糠秕马拉色菌(*Malassezia furfur*)。暂居菌群的微生物通常具有致病因子，其允许细菌附着于病症皮肤区域。其能够附着于例如胶原结构或角蛋白结构。

暂居病原微生物菌群的测定可以通过例如代谢足迹法、脂肪酸组分和细胞壁组分评估、16S 核糖体 RNA 测序或编码特异致病因子的特异 DNA 探针的检测。

术语“不刺激暂居病原微生物菌群的微生物生长”指上述根据本发明方面(i)的微生物不能刺激至少一种、优选多于一种、优选多于两种、更优选

多于5种和特别优选任何一种暂居病原微生物菌群的生长。

如果一种微生物不能在接触暂居病原微生物菌群时导致其生长加速,则此种微生物被认为不刺激暂居病原微生物的生长。是否有生长刺激可以如上所述在体外或原位测试,与上述根据本发明方面(i)的微生物刺激至少一种固有皮肤菌群微生物菌群生长的性质相关联。确定刺激与否的测试最优选通过如上所述的体外孔平板测定和/或原位皮肤测定进行,更优选如实施例中所所述进行。如果一种微生物在接触暂居病原微生物菌群时,后者的生长没有加速或仅有微小的加速,则此种微生物被认为不刺激暂居病原微生物菌群的生长。“微小的加速”指与对照相比,生长的加速不超过5%,更优选不超过2%。术语“没有加速”指与不存在上述根据本发明方面(i)的微生物的对照相比,接触上述根据本发明方面(i)的微生物的暂居病原微生物菌群的生长没有发现统计学相关的差异。在优选实施例中,术语“没有加速”也包括那些微生物实际上导致暂居病原微生物菌群生长减慢的情况,即抑制此种微生物生长的情况。

在另一优选实施方案中,如上述的方面(i)的微生物没有负面影响暂居病原微生物菌群微生物的生长。术语“没有负面影响”指当与不存在上述根据本发明方面(i)的微生物的对照相比,与上述根据本发明方面(i)的微生物接触时没有发现暂居病原微生物菌群的生长被抑制。

在更优选的实施方案中,上述根据本发明方面(i)的微生物不能刺激暂居病原菌群的主要代表物(即金黄色葡萄球菌)的生长。确定微生物是否刺激金黄色葡萄球菌生长的测试优选上文所描述的体外和/或原位测试,更优选如实施例中所描述的测试。

与如上述方面(i)相关的微生物,即能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长的微生物如果与暂居病原皮肤微生物菌群的微生物接触时能够导致其生长降低,那么被认为是抑制暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长。术语“抑制暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长”指如本文上述的本发明方面(ii)的微生物降低暂居病原群体微生物的至少一种、优选一种以上、优选两种以上、更优选五种以上并且尤其优选任一

种。在进一步优选的实施方案中,如本文上述的本发明方面(ii)的微生物抑制暂居病原皮肤微生物菌群的主要代表如金黄色葡萄球菌的生长。在进一步优选的实施方案中,如本文上述的本发明方面(ii)的微生物抑制特别抑制金黄色葡萄球菌的生长。“特别”优选指它抑制金黄色葡萄球菌的生长,但是不显著抑制或者仅仅在微小程度上抑制其他微生物,尤其属于固有皮肤微生物菌群的那些微生物的生长。更优选地,术语“特别”指对葡萄球菌的抑制程度高于对另一微生物、尤其固有皮肤微生物菌群微生物的抑制程度。尤其优选地,术语“特别”指在本领域技术人员已知的合适的生长测定法中,在如本文上述的本发明方面(ii)的微生物的存在下,金黄色葡萄球菌的增殖至多为如本文上述的本发明方面(ii)的微生物存在下另一微生物,尤其固有皮肤微生物菌群的另一微生物增殖的 50%。优选地,在如本文上述的本发明方面(ii)的微生物的存在下,金黄色葡萄球菌的增殖为另一微生物,尤其固有皮肤微生物菌群的另一微生物增殖的 40%, 30%, 20%, 10%, 更优选 5%, 最优选 0%。金黄色葡萄球菌的特异抑制在实施例 10 和 11 中指出,其作为阐明显示了在体外液体测定中,藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)不受如本文上述的本发明方面(ii)的微生物的抑制。在优选实施方案中,如本文上述的本发明方面(ii)的微生物抑制金黄色葡萄球菌的生长,但是不抑制藤黄微球菌和/或大肠杆菌的生长。

在特别优选的实施方案中,当使用包含甘油的培养条件时,可以检测到对金黄色葡萄球菌的特异性抑制。

生长减慢优选指增殖减慢,即每单位的细胞分裂减慢。可选择地,术语“抑制”也指单个细胞大小的减小。细菌细胞的大小可以在用 SYBR Green I (分子探针, USA)染料染色后通过流式细胞计量法(例如 Becton-Dickinson FACSORT 流式细胞仪, San Jose, CA)来评估。细菌细胞大小用偏角光散射(SSC)模式估算。

因此生长减慢指单位时间内产生的生物量的降低。

优选在体外观察暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长抑制,更优选一种测定方法,其中上述根据本发明方面(ii)的微生物与一种或多种暂

居病原皮肤菌群的微生物接触，并且测定这个(这些)暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长。可以通过在培养的不同时间间隔之后进行细胞/菌落计数来测定生长，并将其与不包含上述根据本发明方面(ii)的微生物的对照相比较，以此来确定生长是否加速或减慢。

在实施例描述了测定生长抑制的体外测定，其包含所谓的“体外孔平板测定”。简言之，此类测定包含如下步骤：

- 培养至少一种暂居病原皮肤菌群的微生物，将其均匀涂布到预备好的包含适于各微生物生长(且优选检测)的适当琼脂培养基的琼脂平板上；
- 在接种的琼脂平板提供孔；
- 用预培养的上述根据本发明方面(ii)的微生物细胞填充孔；
- 琼脂平板在允许暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长的条件下培养适当的时间；和
- 在含有上述根据本发明方面(ii)的微生物的孔周围检测暂居病原皮肤菌群的微生物的生长，且将其与不含上述根据本发明方面(ii)的微生物的孔周围微生物的生长相比较。

可以用可获得的测定细胞和/或菌落数的手段和方法来影响最后一步中生长的测定，例如用适当的染料染色和/或光学手段例如光密度法、和在显微镜下计数细胞/菌落。在优选的实施方案中，用孔附近出现的透明区域的直径来确定抑制面积。

更优选地，用“体外液体测定”来确定对暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长抑制。此测定方法在实施例中描述，且简要包括如下步骤：

- 在液体培养基中培养至少一种暂居病原皮肤微生物菌群的微生物；
- 将上述根据本发明方面(ii)的微生物的整分试样的液体培养物和暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的整分试样的液体培养物接种于允许暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长的培养基中；
- 将上述根据本发明方面(ii)的微生物和暂居病原皮肤微生物菌群的微生物在液体培养基中共培养；
- 将共培养的液体培养物的整分试样转移到琼脂平板上，该平板包含适

当的生长培养基;

-琼脂平板在允许暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长的条件下培养一段时间;通过菌落形成单位定量来测定暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长,并将其与不应用上述根据本发明方面(ii)的微生物的对照中微生物的生长进行比较。

甚至更优选地,也在“原位皮肤测定方法”中观测暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长抑制。此测定方法在实施例中描述,其简要包含如下步骤:

-培养至少一种暂居病原皮肤微生物菌群的微生物,将其均匀涂布于测试个体的皮肤区域;

-将上述根据本发明方面(ii)的微生物的整分试样准确涂布于暂居病原皮肤微生物菌群的微生物涂布的区域;

-培育足够时间以允许暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长;

-将上层皮肤,包括其中包含的微生物,转移到包含适当生长培养基的琼脂平板上;

-琼脂平板在允许暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长的条件下培养一段时间;

-测定上述根据本发明方面(ii)的微生物涂布区域周围的暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长,并将其与没有上述根据本发明方面(ii)的微生物涂布的对照中微生物的生长相比较。

此测定所使用的皮肤区域可能是个体的任何合适皮肤区域,优选人个体。在优选的实施方案中,其为人个体前臂的皮肤区域。区域的大小不是决定性的,优选约为 $1-40\text{ cm}^2$,更优选 $5-20\text{ cm}^2$,甚至更优选 $5-10\text{ cm}^2$,例如约 5、6、7、8、9 或 10 cm^2 。

将暂居病原皮肤微生物菌群的微生物平均涂布于此区域,优选密度约为 $10^2\text{ cfu/cm}^2 - 10^3\text{ cfu/cm}^2$ 。涂布于皮肤的微生物在空气中干燥,并且将上述根据本发明方面(ii)的微生物的整分试样以准确的方式涂布于该区域。这可以通过本领域内技术人员所公知的手段来实现。例如,将上述根据本

发明方面(ii)的微生物离心(15 分钟, 4000×g)。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液洗两次(每次 1 ml)。在 200 µl K/Na 缓冲液中重悬细胞, 用微量移液器将 10 µl 准备好的微生物准确涂布于预接种的皮肤区域。

皮肤优选在室温培育例如 2 小时。例如在粘性胶带剥离物的帮助下可以转移上层皮肤, 包括其中包含的微生物。上层皮肤转移到琼脂平板中, 该琼脂平板在允许所测试的暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长的温度下培养, 并且使用已知支持此类微生物生长的生长培养基。通常培养约 24 小时。通过本领域内技术人员所公知的方法检测微生物的生长。优选通过光密度法或将涂布上述根据本发明方面(ii)的微生物的点附近形成的菌落计数来测定。细菌细胞大小可以通过用染料 SYBR Green I (分子探针, USA)染色后用流式细胞计量法(例如 Becton-Dickinson FACSort 流式细胞仪, San Jose, CA)来估算。细菌细胞大小用偏角光散射(SSC)模式估算。

如果在“体外孔平板测定”中, 微生物能导致至少一种暂居病原微生物菌群的微生物的生长与未加微生物的对照相比至少降低 5%, 优选至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%或 70%、80%, 更优选至少 90%, 和甚至更优选至少 95%, 和最优选至少 99%, 则此类微生物被认为是抑制一种或多种暂居病原微生物菌群的生长。

更优选地, 如果在“体外液体测定”中, 微生物能导致至少一种暂居病原微生物菌群的微生物的生长与未加微生物的对照相比降低至少 5%, 优选至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%或 70%、80%, 更优选至少 90%, 和甚至更优选至少 95%, 和最优选至少 99%, 则此类微生物被认为是抑制一种或多种暂居病原微生物菌群的生长。

最优选地, 如果在原位皮肤测定中, 微生物能导致至少一种暂居病原微生物菌群的微生物的生长减慢至少 5%, 优选至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%或 70%、80%, 更优选至少 90%, 和甚至更优选至少 95%, 和最优选至少 99%, 则此类微生物被认为是抑制一种或多种暂居病原微生物菌群的生长。

确定微生物是否抑制暂居病原皮肤微生物菌群的微生物(例如金黄色

葡萄球菌)生长的测试优选如上所述的体外和/或原位测试,更优选如实施例中所描述的测试。

在优选的实施方案中,上述根据本发明方面(ii)的微生物导致一种或多种暂居病原皮肤微生物菌群的微生物(优选金黄色葡萄球菌)的生长抑制,其与至少一种此类微生物在使用抗生素后的生长抑制是可比较的。术语“可比较的”指特定量上述根据本发明方面(ii)的微生物的抑制活性与抗生素的活性在相同的范围内。具体地,优选通过使用 1.0×10^8 和 3.0×10^9 个之间的细胞来实现此种作用,更优选 2.0×10^8 和 1.0×10^9 个细胞之间,甚至更优选 3.0×10^8 和 5.0×10^8 个细胞之间和最优选 3.4×10^8 个细胞,并且由此种量的细胞所达到的抑制活性优选相应于5到15单位的抗生素。术语“抗生素”指具有抑制微生物生长或杀死微生物能力的化学物质。此类物质是本领域技术人员所公知的。优选地,此术语指 β -内酰胺化合物,如青霉素类、头孢菌素类或碳青霉烯类;大环内酯类;四环素类;氟喹诺酮类;磺胺类;氨基糖苷类;咪唑类;肽-抗生素和林可胺类抗生素。更优选地,此术语指杆菌肽和红霉素。在优选的实施方案中,术语“可比较的”指上述根据本发明方面(ii)的微生物约 3.4×10^8 个细胞的抑制活性相应于约150 μg 的杆菌肽或约2.5 μg 的红霉素。最优选地,如在实施例12中说明的,术语“可比较的”指以金黄色葡萄球菌作为指示菌株,本发明的微生物约 3.4×10^8 个细胞的抑制活性相应于约150 μg 的杆菌肽或约2.5 μg 的红霉素。

此处描述了术语“暂居病原微生物菌群的微生物”。优选地,此术语指金黄色葡萄球菌。可以优选在体外观测来比较暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长抑制程度与使用抗生素后至少一种此类微生物的生长抑制,更优选用一种测定方法,其中将上述根据本发明方面(ii)的微生物与一种或多种暂居病原皮肤菌群的微生物接触,并且测定此类暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长。最优选地,用实施例中所描述和前面所提及的“体外孔平板测定”来确定生长抑制的比较。简言之,“体外孔平板测定”的此类比较包含如下步骤:

-培养至少一种暂居病原皮肤微生物菌群的微生物,将其均匀涂布到预

备好的包含适于各微生物生长(且优选检测)的琼脂培养基的琼脂平板上;

- 在接种的琼脂平板提供孔;

- 一些孔用预培养的上述根据本发明方面(ii)的微生物细胞填充, 且一些孔用不同浓度的抗生素填充;

- 琼脂平板在允许暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长的条件下培养适当的时间;

- 在含有上述根据本发明方面(ii)的微生物的孔周围检测暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长, 且将其与含不同浓度抗生素的孔周围微生物的生长相比较;

- 测量孔的抑制圈的直径, 并计算抑制面积; 和

- 将由上述根据本发明方面(ii)的微生物引起的生长抑制和由抗生素引起的生长抑制相关联。

在优选的实施方案中, 术语“抑制暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长”指由于释放(防御性)抗菌物质而使暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长减慢。术语“抗菌物质”指能介导暂居病原皮肤微生物菌群的微生物生长的选择性抑制的物质。优选的物质是对蛋白酶消化作用不敏感的物质。术语“不敏感”指该物质不受或仅部分地受蛋白酶活性的影响。术语“蛋白酶”指催化蛋白质内部肽键断裂的任何酶, 其为本领域技术人员所公知。在优选的实施方案中, 该术语指蛋白酶 K、灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*)蛋白酶、胰蛋白酶或胰凝乳蛋白酶。术语“蛋白酶消化”指在本领域技术人员公知的条件下的蛋白酶反应。在优选的实施方案中, 该术语指在 37°C 下例如培育 1 小时。

在更优选的实施方案中, 术语“抗菌物质”指该物质的特征在于在高或低 pH 值下其特性不会被扰乱。术语“不扰乱”指该物质稳定, 并且有生物学活性。术语“高 pH 值”和“低 pH 值”是本领域技术人员所公知的。优选地, 在 pH 3 到 pH 11 之间, 其特性不被扰乱。

关于固有皮肤微生物菌群微生物生长的术语“不抑制”指当与如本文上述的本发明方面(ii)的微生物接触时, 至少一种、优选一种以上、更优选两

种以上、更优选五种以上，尤其优选任一种固有皮肤微生物菌群微生物的生长不改变。不改变的生长优选指不改变的增殖，即，每时间单位的细胞分裂。

如果微生物与固有皮肤微生物菌群微生物接触时不减弱其生长，那么认为该微生物不改变固有皮肤微生物菌群微生物的生长。生长的抑制或不抑制可以关于如本文上述的本发明方面(ii)的微生物抑制至少一种暂居病原皮肤微生物菌群微生物生长的性质如上述在体外或原位测试。最优选地，通过用如下文解释，更优选如实施例中所所述的固有皮肤微生物菌群微生物进行“体外孔平板测定”和/或“体外液体测定”来进行测定抑制或不抑制的测试。

简言之，用固有皮肤微生物菌群微生物进行的“体外孔平板测定”包括下面的步骤：

- 培养至少一种固有皮肤微生物菌群的微生物，将其均匀涂布到预备好的包含适于各微生物生长(且优选检测)的适当琼脂培养基的琼脂平板上；

- 在接种的琼脂平板中提供孔；

- 用预培养的如本文上述的本发明方面(ii)的微生物细胞填充孔；

- 琼脂平板在允许固有皮肤微生物菌群的微生物生长的条件下培养适当的时间；和

- 在含有如本文上述的本发明方面(ii)的微生物的孔周围检测固有皮肤微生物菌群的微生物的生长，且将其与不含根据本发明的微生物的孔周围微生物的生长相比较。

可以用可获得的测定细胞和/或菌落数的手段和方法来影响最后一步中生长的测定，例如用适当的染料染色和/或光学手段例如光密度法、和在显微镜下计数细胞/菌落。在优选的实施方案中，使用孔周围出现的透明圈的直径以确定抑制面积。

固有皮肤微生物菌群的微生物的“体外液体测定”在实施例中描述，其简要包括如下步骤：

- 在液体培养基中培养至少一种固有皮肤微生物菌群的微生物；

-将上述根据本发明方面(ii)的微生物的整分试样液体培养物和固有皮肤微生物菌群的微生物的整分试样液体培养物接种于允许固有皮肤微生物菌群的微生物生长的培养基中;

-上述根据本发明方面(ii)的微生物和固有皮肤微生物菌群的微生物在液体培养基中共培养;

-将共培养的液体培养物的整分试样转移到琼脂平板上,该平板包含适当的生长培养基;

-琼脂平板在允许固有皮肤微生物菌群的微生物生长的条件下培养一段时间;

-通过菌落形成单位定量来测定固有皮肤微生物菌群的微生物的生长,并将其与不应用上述根据本发明方面(ii)的微生物的对照中微生物的生长进行比较。

简言之,固有皮肤微生物菌群的微生物的“原位皮肤测定”包含如下步骤:

-培养至少一种固有皮肤微生物菌群的微生物,将其均匀涂布于测试个体的皮肤区域;

-将上述根据本发明方面(ii)的微生物的整分试样准确涂布于固有皮肤微生物菌群的微生物涂布的区域;

-将皮肤培育足够时间以允许固有皮肤微生物菌群的微生物的生长;

-将上层皮肤,包括其中包含的微生物,转移到包含适当生长培养基的琼脂平板上;

-琼脂平板在允许固有皮肤微生物菌群的微生物生长的条件下培养一段时间;

-测定上述根据本发明方面(ii)的微生物涂布区域周围的固有皮肤微生物菌群的微生物的生长,并将其与没有本发明的微生物涂布的对照中微生物的生长相比较。

如果一种微生物在接触固有皮肤微生物菌群的微生物时,后者的生长没有减慢或仅有微小的减慢,则上述根据本发明方面(ii)的微生物被认为不

改变固有皮肤微生物菌群的微生物的生长。“微小的减慢”指与对照相比，生长减慢不超过 5%，更优选不超过 2%。术语“没有减慢”指与不存在上述根据本发明方面(ii)的微生物的对照相比，接触上述根据本发明方面(ii)的微生物的固有皮肤微生物菌群的微生物的生长没有发现统计学相关的差异。

在另一个优选的实施方案中，本发明的微生物对固有皮肤微生物菌群的微生物的生长没有负面影响。术语“没有负面影响”指与不存在上述根据本发明方面(ii)的微生物的对照相比，与本发明的微生物接触时没有发现固有皮肤微生物菌群的微生物的生长被抑制。

在特别优选的实施方案中，本发明的方面(i)或(ii)的微生物是属于乳酸菌族的微生物。术语“属于乳酸菌族的微生物”包括属于细菌，特别是属于革兰氏阳性发酵真细菌，更特别是属于包括乳酸菌的乳杆菌科的微生物。从分类学角度乳酸菌被分为链球菌、明串珠菌、片球菌和乳杆菌几个亚类。本发明的微生物优选为乳杆菌种。乳酸菌族的成员通常缺少卟啉和细胞色素，不能进行电子转移磷酸化，因此只能通过底物水平磷酸化来获得能量。即在乳酸菌中通过碳水化合物发酵来合成 ATP。所有的乳酸菌都是厌氧生长的，然而，与许多厌氧菌不同，多数乳酸菌对氧都不敏感，因此其在氧存在和不存在的条件下都能生长。相应地，本发明的细菌优选为耐氧的厌氧乳酸菌，优选属于乳杆菌属。

本发明的乳酸菌优选为杆状或球状，具有从长细到短弯杆状的不同形状，此外优选固定的和/或不产孢子的，并且其发酵代谢产生的主要或唯一产物是乳酸。在优选的实施方案中，本发明的微生物所属的乳杆菌属根据如下特性被分为三个主要亚类，本发明的乳杆菌种可以属于三个主要亚类之一：

(a) 同型发酵乳杆菌

(i) 产生乳酸，优选通过糖酵解途径从葡萄糖产生至少 85%量的 L-、D-或 DL-同分异构体的乳酸；

(ii) 在 45℃ 而不是 15℃ 生长；

(iii) 形状为长杆状；和

(iv) 细胞壁中含有甘油磷壁酸;

(b) 同型发酵乳杆菌

(i) 产生乳酸, 优选通过糖酵解途径产生 L-或 DL-同分异构体的乳酸;

(ii) 在 15℃ 生长, 在 45℃ 显示可变的生长;

(iii) 形状为短杆状或棒状; 和

(iv) 在其细胞壁中含有核糖醇和/或甘油磷壁酸;

(c) 异型发酵乳杆菌

(i) 产生乳酸, 优选通过戊糖磷酸途径从葡萄糖产生至少 50% 量的 DL-同分异构体的乳酸;

(ii) 产生二氧化碳和乙醇;

(iii) 在 15℃ 或 45℃ 显示可变的生长;

(iv) 形状为长或短杆状; 和

(v) 其细胞壁中含有甘油磷壁酸。

基于上述特性, 本发明的微生物被分类为属于乳酸菌族, 具体为乳杆菌属。通过使用经典分类学, 例如参考“细菌分类学 Bergey 手册” (Williams & Wilkins Co., 1984) 中的相关描述, 可以确定本发明的微生物属于乳杆菌属。可选择地, 根据本领域公知的方法将本发明的微生物分类为属于乳杆菌属, 例如根据它们的代谢指纹, 即本发明的微生物糖代谢能力的可比较的概况, 或根据其它方法, 例如在 Schleifer 等人, *System. Appl. Microb.*, 18 (1995), 461-467 或 Ludwig 等人, *System. Appl. Microb.*, 15 (1992), 487-501 中所描述的方法。本发明的微生物能代谢糖源, 所述糖源对于属于乳杆菌属的微生物是本领域典型且公知的。

也可以使用其它本领域公知的方法对本发明的微生物归入乳杆菌属进行表征, 例如使用 SDS-PAGE 凝胶电泳测定物种的总蛋白质, 并将它们与公知的和已经表征的乳杆菌属菌株进行比较。制备上述总蛋白质谱的技术和此类谱的数值分析是本领域内技术人员所熟知的。然而, 只有其过程的各阶段充分标准化, 结果才是可信的。当确定微生物系乳杆菌属时, 面对精确的要求, 由其作者例如 Pot 等人在 1994 年 9 月 12 日到 16 日在比利

时 Ghent 大学由欧盟组织的“研讨会”中提出(细菌分类和鉴定的指纹技术, 全细胞蛋白质的 SDS-PAGE), 有规律的制订公众可获得的标准化操作。分析 SDS-PAGE 电泳凝胶的技术中所使用的软件是极为重要的, 因为种间的相关度依赖于此软件所用的参数和算法。不需进入理论细节, 优选通过 Pearson 相关系数将经光密度计测量和计算机标准化的条带定量比较。由此所获得的类似矩阵可以在 UPGMA (使用平均连接的不加权配对组方法) 算法的帮助下组织在一起, 该算法不仅能够将最近似谱组合在一起, 而且能构建树形图(见 Kersters, Numerical methods in the classification and identification of bacteria by electrophoresis, in Computer-assisted Bacterial Systematics, 337-368, M. Goodfellow. A. G. O'Donnell 编辑, John Wiley 和 Sons Ltd, 1985)。

可选择地, 也可以根据所谓的 Riboprinter.RTM.中关于核糖体 RNA 的特征将所述本发明的微生物归入乳杆菌属。更优选地, 通过将本发明细菌的 16S 核糖体 RNA 的核苷酸序列, 或其编码 16S 核糖体 RNA 的基因组 DNA 的核苷酸序列, 与其它迄今为止已知的乳酸菌属和种相比较, 而将本发明新鉴定的种归入乳酸菌属。另一个优选的确定本发明新鉴定的种属于乳酸菌属的选择是使用靶向 16S-23S rRNA 间隔区域的种特异性 PCR 引物。另一个优选的选择是 RAPD-PCR (Niqatu 等人.于 Antonie van Leeuwenhoek (79), 1-6, 2001), 由于其产生菌株特异性 DNA 模式, 允许确定与本发明一致的鉴定微生物系乳酸菌属。另外的确定本发明的微生物系乳酸菌属所使用的技术是限制性内切酶片段长度多态性(RFLP) (Giraffa 等人. Int. J. Food Microbiol. 82 (2003), 163-172)、重复元素指纹法(Gevers 等人. FEMS Microbiol. Lett. 205 (2001) 31-36)或细菌细胞的脂肪酸甲基酯(FAME)模式分析(Heyrman 等人. FEMS Microbiol. Lett. 181 (1991), 55-62)。可选择地, 可以通过凝集素分型(Annuk 等人. J. Med. Microbiol. 50 (2001), 1069-1074) 或分析它们的细胞壁蛋白质(Gatti 等人. Lett. Appl. Microbiol. 25 (1997), 345-348.)来确定乳杆菌。

在本申请的优选实施方案中, 微生物是益生乳杆菌种。在本发明中未

语“益生”指如果微生物局部应用于皮肤，其具有对健康有益的作用。优选地，“益生”微生物是活的微生物，当其局部应用于皮肤时，对此组织的健康有益。最优选其意味着该微生物对皮肤微生物菌群具有正面的作用。

在优选实施方案中，如上述根据本发明方面(i)的微生物属于副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)或发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)种。然而，乳杆菌种并不限于这些。

在本发明特别优选的实施方案中，如上述根据本发明方面(i)的微生物选自以登陆号 DSM 17248 (副干酪乳杆菌副干酪亚种 *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* LB-OB-H2)、DSM 17247 (短乳杆菌 LB-OB-H 1)、DSM 17250 (短乳杆菌 LB-OB-H4)和 DSM 17249 (发酵乳杆菌 LB-OB-H3)保藏于 DSMZ 的副干酪乳杆菌、短乳杆菌或发酵乳杆菌组成的组。本发明也涉及上述保藏的乳杆菌菌种的突变体或衍生物，其中所述突变体或衍生物保持了它们刺激固有皮肤微生物菌群的至少一种微生物生长的能力和它们不刺激暂居病原微生物菌群的微生物生长的特性。

术语“以登陆号保藏于 DSMZ 的副干酪乳杆菌、短乳杆菌或发酵乳杆菌”指涉及副干酪乳杆菌、短乳杆菌或发酵乳杆菌物种的微生物的细胞于，其于 2005 年 4 月 18 日保藏在德意志微生物保藏中心(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) (DSMZ)，保藏号为 DSM 17248 (副干酪乳杆菌 LB-OB-H02)、DSM 17247 (短乳杆菌 LB-OB-H01)、DSM 17250 (短乳杆菌 LB-OB-H04)和 DSM 17249 (发酵乳杆菌 LB-OB-H03)。DSMZ 位于马舍尔欧德路(Mascheroderweg) 1b, D-38124 不伦瑞克(Braunschweig)，德国。上述保藏物依照国际承认的用于专利程序目的的微生物保藏的布达佩斯条约来保藏。

在另一优选实施方案中，如本文上述的本发明方面(ii)的微生物属于布氏乳杆菌(*Lactobacillus buchneri*)或德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrückii*)种。然而，乳杆菌种并不限于这些。

在本发明特别优选的实施方案中，如本文上述的本发明方面(ii)的微生物选自以登录号为 DSM 18007 (布氏乳杆菌 OB-LB-Sa16)和 DSM 18006

(德氏乳杆菌德氏亚种(*Lactobacillus delbrückii* ssp. *Delbrückii*) OB-LB-Sa3) 保藏于 DSMZ 的布氏乳杆菌或德氏乳杆菌组成的组。本发明也涉及上述保藏的乳杆菌菌种的突变体或衍生物, 其中所述突变体或衍生物保持了它们抑制一种或多种暂居病原皮肤微生物菌群生长和它们不抑制正常健康的固有皮肤微生物菌群生长的能力。

术语“以登录号保藏于 DSMZ 的布氏乳杆菌或德氏乳杆菌”指属于布氏乳杆菌或德氏乳杆菌物种的微生物的细胞于 2006 年 2 月 24 日保藏在德意志微生物保藏中心(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) (DSMZ), 保藏号为 DSM 18007 (布氏乳杆菌 OB-LB-Sa16) 和 DSM 18006 (德氏乳杆菌德氏亚种 OB-LB-Sa3)。DSMZ 位于马舍尔欧德路(Mascheroderweg) 1b, D-38124 不伦瑞克(Braunschweig), 德国。上述保藏物依照国际承认的用于专利程序目的的微生物保藏的布达佩斯条约来保藏。

在本发明另一尤其优选的实施方案中, 本发明涉及至少一种保藏的如本文上述根据本发明方面(i)的微生物和至少一种保藏的如本文上述根据本发明方面(ii)的微生物的任一组合。优选地, 术语“组合”指至少一种保藏的根据本发明方面(i)的微生物和至少一种保藏的根据本发明方面(ii)的微生物的任何可能的组合, 如至少一种特定的保藏的根据本发明方面(i)的微生物和至少一种特定的保藏的根据本发明方面(ii)的微生物的组合。在进一步优选的实施方案中, 术语“组合”也指如本文上述根据方面(i)的所有保藏的微生物的完整组和如本文上述根据方面(ii)的所有保藏的微生物的完整组的组合。在进一步优选的实施方案中, 术语“组合”也指如本文上述根据方面(i)的所有保藏的微生物的组的任何亚组和如本文上述根据方面(ii)的所有保藏的微生物的组的任何亚组的组合。尤其优选的是作为 DSM 17250 保藏的短乳杆菌 LB-OB-H04 和作为 DSM 18006 保藏的德氏乳杆菌德氏亚种 OB-LB-Sa3 的组合。

特别优选的实施方案中, 在如上述根据本发明方面(i)或(ii)的微生物是“分离的”或“纯化的”。术语“分离的”指材料从其原始环境中移出, 例如天

然环境(如果其天然存在),或培养基(如果其为培养的)。例如,天然存在的微生物(优选乳杆菌种)从天然系统中某些或所有共存的材料中分离出来,则其为分离的。此类微生物可以是组合物的部分,并且只要该组合物不是其天然环境的部分,则此类微生物可仍然被视作是分离的。

术语“纯化的”不需要绝对纯化;而是意为相对确定的。从库中获得的具体微生物已经按常规纯化为微生物学同质,即当用本领域公知的方法在琼脂平板上划线时,它们作为单个菌落生长。优选地,为此目的使用的琼脂平板是乳杆菌物种选择性的。此类选择性琼脂平板是本领域内公知的。

在本发明的另一实施方案中,如上述根据本发明方面(i)的微生物为无活性形式,其为例如热灭活的或冻干的,但是其保留了刺激固有皮肤微生物菌群生长和不刺激暂居病原皮肤微生物菌群生长的特性。

根据本发明,术语“如上述根据本发明方面(i)的微生物的无活性形式”包括本发明微生物(优选此处公开的乳杆菌种)的死细胞或无活性细胞,其在对于乳杆菌属微生物的特异平板上不能形成单菌落。所述死细胞或无活性细胞可以具有完整的或破坏的细胞膜。杀死或灭活本发明微生物的细胞的方法是本领域公知的。El-Nezami 等人. *J. Food Prot.* 61 (1998), 466-468 描述了用紫外线照射灭活乳杆菌种的方法。优选地,如上述根据本发明方面(i)的微生物的细胞是热灭活或冻干的。如本文上述根据本发明方面(i)的细胞的冻干的优势在于它们容易保藏和操作,而保留它们刺激固有皮肤微生物菌群生长而不刺激暂居病原微生物菌群生长的特性。而且,当冻干的细胞在本领域公知的条件下应用于适当液体或固体培养基时,能够重新生长。以本领域公知的方法进行冻干。优选在室温,即在 16°C 到 25°C 之间的任意温度进行至少 2 小时。而且,如上述根据本发明方面(i)的微生物的冻干细胞在 4°C 可以稳定至少 4 周,仍然保留它们的上述特性。可以通过将如上述根据本发明方面(i)的微生物的细胞在 170°C 温育至少 2 小时而实现热灭活。然而,优选通过将所述细胞在 121°C 饱和蒸汽存在下以 2 巴大气压进行高压灭菌至少 20 分钟来实现热灭活。备选地,将如上述根据本发明方面(i)的微生物的细胞在 -20°C 冷冻至少 4 周、3 周、2 周、1 周、12 小时、

6 小时、2 小时或 1 小时来获取如上述根据本发明方面(i)的微生物的热灭活的细胞。优选至少 70%、75%或 80%，更优选 85%、90%或 95%，和特别优选至少 97%、98%、99%和更特别优选 99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%或 99.9%，和最特别优选 100%的如上述根据本发明方面(i)的微生物的无活性形式的细胞是死的或无活性的，然而，它们仍然具有刺激固有皮肤微生物菌群生长但不刺激暂居病原微生物菌群生长的能力。如上述根据本发明方面(i)的微生物的无活性形式是否的确是死的或无活性的，可以通过本领域公知的方法来测试，例如通过活力测试。

术语“如上述根据本发明方面(i)的微生物的无活性形式”也包含如上述根据本发明方面(i)的微生物的裂解物、级分或提取物，优选此处公开的乳杆菌种，其中所述裂解物、级分或提取物优选刺激固有皮肤微生物菌群生长而不刺激暂居病原微生物菌群(特别是此处所述的金黄色葡萄球菌)生长。此种刺激的测试如此处所述，特别如所附实施例中所述。此种情况，本发明微生物的裂解物、级分或提取物可能刺激暂居病原微生物菌群微生物生长，然后技术人员能够例如通过本领域公知的方法进一步纯化所述裂解物、级分或提取物，以便除去可能刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的物质，这些方法在下面举例列出。然后本领域技术人员可以再次测试所述裂解物、级分或提取物是否刺激固有皮肤微生物菌群生长而不刺激暂居病原微生物菌群生长。

根据本发明的术语“裂解物”指被破坏的如上述根据本发明方面(i)的微生物的细胞在水性介质中的溶液或悬浮液或提取物。然而，不应该以任何受限制的方式来解释该术语。细胞裂解物包含例如大分子，如 DNA、RNA、蛋白质、肽、碳水化合物、脂类等等，和/或小分子，如氨基酸、糖、脂酸等等，或其部分。另外，所述裂解物包含细胞碎片，其可以为平滑或颗粒结构。制备微生物的细胞裂解物的方法是本领域内公知的，例如使用弗氏细胞压碎器，使用玻璃或铁珠研磨细胞或酶促裂解等。此外，裂解细胞涉及用本领域公知的多种打开/破坏细胞的方法。裂解细胞的方法并不重要，

可以使用任何能够使本发明微生物的细胞裂解的方法。本领域技术人员可以选择一种适当的方法,例如通过酶促、化学或物理的方法打开/破坏细胞。酶和酶混合物的非限制性实例是蛋白酶,如蛋白酶 K、脂酶或糖苷酶;化学方法的非限制性实例是离子载体、去污剂如十二烷基硫酸钠、酸或碱;和物理方法的非限制性实例是高压如弗氏压碎、摩尔渗透压浓度、温度如热和冷。另外,除了蛋白水解酶、酸、碱等等,也使用合适的酶组合的方法。例如用冷冻和融解来裂解上述根据本发明方面(i)的微生物的细胞,更优选在低于-70℃的温度冷冻和高于 30℃的温度融解,特别优选在低于-75℃冷冻和高于 35℃融解,和最优选在低于-80℃冷冻和高于 37℃融解。也优选重复所述冷冻/融解至少 1 次,更优选至少 2 次,甚至更优选至少 3 次,特别优选至少 4 次和最优选至少 5 次。

因此,那些本领域的技术人员可以通过参考上述概括说明来制备所需的裂解物,并且如果需要,将那些方法适当地修饰或改变。优选地,所述裂解物所用的水介质是水、生理盐水或缓冲液。细菌细胞裂解物的优点是能够容易地生产和保藏,由于需要较少的技术设备所以成本低。

优选地,术语“提取物”指根据本发明方面(i)的微生物的亚细胞组分,例如,大分子,像蛋白质、DNA、RNA、肽、糖类、脂类等等和/或小分子,像氨基酸、糖、脂酸等等或者任何其他有机化合物或分子,或者此类大分子和/或小分子的组合或其任何级分,其中所述提取物刺激固有皮肤微生物菌群的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物、尤其如本文所述的金黄色葡萄球菌的生长。该刺激可以如本文所述,尤其如所附实施例中所述的测试。更优选地,术语“提取物”指无细胞介质中任一种上述亚细胞组分。

在进一步优选的实施方案中,通过本领域技术人员公知的多种打开/破坏细胞的方法通过裂解细胞得到提取物,如上文所述和/或作为本发明微生物的培养物在本领域技术人员已知的任何合适的液体、培养基或缓冲液中离心步骤的上清液或者作为此类培养物或任何其他合适细胞悬浮液的裂解物。更优选地,提取物可以是纯化的裂解物或细胞培养上清液或者其

任何级分或亚部分,其中所述纯化的裂解物或细胞培养上清液或其任何级分或亚部分刺激固有皮肤微生物菌群的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群,尤其如本文所述的金黄色葡萄球菌的生长。该刺激可以如本文所述,尤其如所附实施例中所述的测试。分级分离和纯化裂解物、培养上清液或提取物的合适方法是本领域技术人员已知的并且包括例如,亲和层析、离子交换层析、大小排阻层析、反向层析和用其它层析材料柱层析,或分批处理法,其它分级分离方法例如过滤法,例如超滤、透析、用离心下的大小排阻浓缩,梯度密度离心或分步介质离心、沉淀(例如亲和沉淀)、盐溶或盐析(硫酸铵沉淀)、醇沉淀,或任何其它蛋白质化学、分子生物学、生物化学、免疫学、化学或物理学方法。

根据本发明,裂解物也可以是来自上述裂解物的分子部分的制品。这些部分可以通过本领域那些技术人员所公知的方法获得,例如层析(包括例如亲和层析、离子交换层析、大小排阻层析、反向层析和用其它层析材料柱层析),或分批处理法,其它分级分离方法例如过滤法,例如超滤、透析、用大小排阻透析和浓缩离心,梯度密度离心或分步介质离心、沉淀(例如亲和沉淀)、盐溶或盐析(硫酸铵沉淀)、醇沉淀,或其它蛋白质化学、分子生物学、生物化学、免疫学、化学或物理学方法分离上述裂解物的组分。在优选的实施方案中,优选那些比其它部分更具免疫原性的部分。本领域的技术人员能够选择合适的方法,并参考实施例中上述常规说明和特殊说明来确定其免疫原性潜力,如果需要可以将那些方法适当地修饰或改变。

相应地,术语“如上述根据本发明方面(i)的微生物的无活性形式”也包含如上述根据本发明方面(i)的微生物的滤出液,优选此处公开的乳杆菌,其中所述滤出液优选刺激固有皮肤微生物菌群的微生物的生长,并且不刺激暂居病原微生物菌群的微生物,尤其如本文所述的金黄色葡萄球菌的生长。

该刺激可以如本文所述,尤其如所附实施例中所述的测试。此种情况,如上述根据本发明方面(i)的微生物的滤出液可能刺激暂居病原微生物菌群微生物生长,然后技术人员能够例如通过本领域公知的方法(其在下文中示

例)进一步纯化所述裂解物或级分,以便除去可能刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的物质。然后本领域技术人员可以再次测试所述滤出液是否刺激固有皮肤微生物菌群生长而不刺激暂居病原微生物菌群生长。

术语“滤出液”指如上述根据本发明方面(i)的微生物的无细胞溶液或悬浮液,其通过将本发明的微生物在本领域技术人员公知的适当液体、培养基或缓冲液中培养,离心取上清液而获得。然而,不应该以任何受限制的方式来解释该术语。滤出液包含例如大分子,如 DNA、RNA、蛋白质、肽、碳水化合物、脂类等,和/或小分子,如氨基酸、糖、脂酸等,或其部分。制备微生物滤出液的方法是本领域内公知的。另外,“滤出液”涉及本领域内公知的多种方法。提取方法并不重要,可以使用任何能够使如上述根据本发明方面(i)的微生物的细胞滤出的方法。

术语“如上述根据本发明方面(i)的微生物的无活性形式”包含如上述根据本发明方面(i)的微生物的细胞的任何部分。优选地,所述无活性形式是通过膜制备获得的膜部分。属于乳杆菌属的微生物的膜制备物可以通过本领域公知的方法获得,例如通过使用如 Rollan 等人, *Int. J. Food Microbiol.* 70 (2001), 303-307、Matsuquchi 等人, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10 (2003), 259-266 或 Stentz 等人, *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (2000), 4272-4278 或 Varmanen 等人, *J. Bacteriology* 182 (2000), 146-154 中描述的方法。可选择地,也可以利用全细胞制品。

在本发明的另一实施方案中,如本文上述的本发明方面(ii)的微生物是无活性形式,其被例如热灭活或者冻干,但是保留抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康的正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的特性。

根据本发明,术语“如上述根据本发明方面(ii)的微生物的无活性形式”包括本发明微生物(优选此处公开的乳杆菌种)的死细胞或无活性细胞,其在对于乳杆菌属微生物的特异平板上不能形成单菌落。所述死细胞或无活性细胞可以具有完整的或破坏的细胞膜。杀死或灭活本发明微生物的细胞的方法是本领域公知的。El-Nezami 等人, *J. Food Prot.* 61 (1998),

466-468 描述了用紫外线照射灭活乳杆菌种的方法。优选地，如上述根据本发明方面(ii)的微生物的细胞是热灭活或冻干的。如本文上述根据本发明方面(ii)的细胞的冻干的优势在于它们容易保藏和操作，而保留抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康的正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的特性。而且，当冻干的细胞在本领域公知的条件下应用于适当液体或固体培养基时，能够重新生长。以本领域公知的方法进行冻干。优选在室温，即在 16°C 到 25°C 之间的任意温度进行至少 2 小时。而且，如上述根据本发明方面(ii)的微生物的冻干细胞在 4°C 可以稳定至少 4 周，仍然保留它们的上述特性。可以通过将如上述根据本发明方面(ii)的微生物的细胞在 170°C 温育至少 2 小时而实现热灭活。然而，优选通过将所述细胞在 121°C 饱和蒸汽存在下以 2 巴大气压进行高压灭菌至少 20 分钟来实现热灭活。备选地，将如上述根据本发明方面(ii)的微生物的细胞在 -20°C 冷冻至少 4 周、3 周、2 周、1 周、12 小时、6 小时、2 小时或 1 小时来获取如上述根据本发明方面(ii)的微生物的热灭活的细胞。优选至少 70%、75% 或 80%，更优选 85%、90% 或 95%，和特别优选至少 97%、98%、99% 和更特别优选 99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8% 或 99.9%，和最特别优选 100% 的如上述根据本发明方面(ii)的微生物的无活性形式的细胞是死的或无活性的，然而，它们仍然具有抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康的正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的能力。如上述根据本发明方面(ii)的微生物的无活性形式是否的确是死的或无活性的，可以通过本领域公知的方法来测试，例如通过活力测试。

术语“如上述根据本发明方面(ii)的微生物的无活性形式”也包含如上述根据本发明方面(ii)的微生物的裂解物、级分或提取物，优选此处公开的乳杆菌种，其中所述裂解物、级分或提取物优选抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物(优选金黄色葡萄球菌)的生长并且不抑制健康的正常固有皮肤微生物菌群微生物生长。此种抑制的测试如此处所述，特别如所附实施例中所述。此种情况，本发明微生物的裂解物、级分或提取物

可能刺激暂居病原微生物菌群微生物生长，然后技术人员能够例如通过本领域公知的方法进一步纯化所述裂解物、级分或提取物，以便除去可能不抑制或者刺激暂居病原皮肤微生物菌群微生物生长的物质，这些方法在下面举例列出。然后本领域技术人员可以再次测试所述裂解物、级分或提取物是否抑制暂居病原皮肤微生物菌群的微生物的生长并且不抑制固有皮肤微生物菌群微生物的生长。

根据本发明的术语“裂解物”指被破坏的如上述根据本发明方面(ii)的微生物的细胞在水性介质中的溶液或悬浮液或提取物。然而，不应该以任何受限制的方式来解释该术语。细胞裂解物包含例如大分子，如 DNA、RNA、蛋白质、肽、碳水化合物、脂类等等，和/或小分子，如氨基酸、糖、脂酸等等，或其级分。另外，所述裂解物包含细胞碎片，其可以为平滑或颗粒结构。制备微生物的细胞裂解物的方法是本领域内公知的，例如使用弗氏细胞压碎器，使用玻璃或铁珠研磨细胞或酶促裂解等。此外，裂解细胞涉及用本领域公知的多种打开/破坏细胞的方法。裂解细胞的方法并不重要，可以使用任何能够使本发明微生物的细胞裂解的方法。本领域技术人员可以选择一种适当的方法，例如通过酶促、化学或物理的方法打开/破坏细胞。酶和酶混合物的非限制性实例是蛋白酶，如蛋白酶 K、脂酶或糖苷酶；化学方法的非限制性实例是离子载体、去污剂如十二烷基硫酸钠、酸或碱；和物理方法的非限制性实例是高压如弗氏压碎、摩尔渗透压浓度、温度如热和冷。另外，除了蛋白水解酶、酸、碱等等，也使用合适的酶组合的方法。例如用冷冻和融解来裂解上述根据本发明方面(ii)的微生物的细胞，更优选在低于-70℃的温度冷冻和高于 30℃的温度融解，特别优选在低于-75℃冷冻和高于 35℃融解，和最优选在低于-80℃冷冻和高于 37℃融解。也优选重复所述冷冻/融解至少 1 次，更优选至少 2 次，甚至更优选至少 3 次，特别优选至少 4 次和最优选至少 5 次。

因此，那些本领域的技术人员可以通过参考上述概括说明来制备所需的裂解物，并且如果需要，将那些方法适当地修饰或改变。优选地，所述裂解物所用的水介质是水、生理盐水或缓冲液。细菌细胞裂解物的优点是

能够容易地生产和保藏，由于需要较少的技术设备所以成本低。

优选地，术语“提取物”指根据本发明方面(ii)的微生物的亚细胞组分，例如，大分子，像蛋白质、DNA、RNA、肽、糖类、脂类等等和/或小分子，像氨基酸、糖、脂酸等等或者任何其他有机化合物或分子，或者所述大分子和/或小分子的组合或其任何级分，其中所述提取物抑制如本文所述的暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物(优选金黄色葡萄球菌)的生长并且不抑制健康的正常固有皮肤微生物菌群微生物生长。该抑制可以如本文所述，尤其如所附实施例中所述的测试。更优选地，术语“提取物”指无细胞介质中任一种上述亚细胞组分。

在进一步优选的实施方案中，通过本领域技术人员公知的多种打开/破坏细胞的方法通过裂解细胞得到提取物，如上文所述和/或作为本发明微生物的培养物在本领域技术人员已知的任何合适的液体、培养基或缓冲液中离心步骤的上清液或者作为此类培养物或任何其他合适细胞悬浮液的裂解物。更优选地，提取物可以是纯化的裂解物或细胞培养上清液或者其任何级分或亚部分，其中所述纯化的裂解物或细胞培养上清液或其任何部分或亚部分抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物(优选金黄色葡萄球菌)的生长并且不抑制如本文所述的健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长。该抑制可以如本文所述，尤其如所附实施例中所述的测试。分级分离和纯化裂解物、培养上清液或提取物的合适方法是本领域技术人员已知的并且包括例如，亲和层析、离子交换层析、大小排阻层析、反向层析和用其它层析材料柱层析，或分批处理法，其它分级分离方法例如过滤法，例如超滤、透析、在离心下大小排阻浓缩，梯度密度离心或分步介质离心、沉淀(例如亲和沉淀)、盐溶或盐析(硫酸铵沉淀)、醇沉淀，或任何其它蛋白质化学、分子生物学、生物化学、免疫学、化学或物理学方法。

根据本发明，裂解物也可以是来自上述裂解物的分子部分的制品。这些部分可以通过本领域那些技术人员所公知的方法获得，例如层析(包括例如亲和层析、离子交换层析、大小排阻层析、反向层析和用其它层析材料

柱层析),或分批处理法,其它分级分离方法例如过滤法,例如超滤、透析、用大小排阻透析和浓缩离心,梯度密度离心或分步介质离心、沉淀(例如亲和沉淀)、盐溶或盐析(硫酸铵沉淀)、醇沉淀,或其它蛋白质化学、分子生物学、生物化学、免疫学、化学或物理学方法分离上述裂解物的组分。在优选的实施方案中,优选那些比其它部分更具免疫原性的部分。本领域的技术人员能够选择合适的方法,并参考实施例上述常规说明和特殊说明来确定其免疫原性潜力,如果需要可以将那些方法适当地修饰或改变。

相应地,术语“如上述根据本发明方面(ii)的微生物的无活性形式”也包含如上述根据本发明方面(ii)的微生物的滤出液,优选此处公开的乳杆菌,其中所述滤出液优选抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物(优选金黄色葡萄球菌)的生长并且不抑制如本文所述的健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长。该抑制可以如本文所述,尤其如所附实施例中所述的测试。此种情况,如上述根据本发明方面(ii)的微生物的滤出液可能不抑制或刺激暂居病原微生物菌群微生物生长,然后技术人员能够例如通过本领域公知的方法(其在下文中示例)进一步纯化所述裂解物或级分,以便除去可能刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的物质。然后本领域技术人员可以再次测试所述滤出液是否抑制暂居病原微生物菌群生而不抑制固有皮肤微生物菌群微生物的生长。

术语“滤出液”指如上述根据本发明方面(ii)的微生物的无细胞溶液或悬浮液,其通过将本发明的微生物在本领域技术人员公知的适当液体、培养基或缓冲液中培养,离心取上清液而获得。然而,不应该以任何受限制的方式来解释该术语。滤出液包含例如大分子,如DNA、RNA、蛋白质、肽、碳水化合物、脂类等,和/或小分子,如氨基酸、糖、脂酸等,或其部分。制备微生物滤出液的方法是本领域内公知的。另外,“滤出液”涉及本领域内公知的多种方法。提取方法并不重要,可以使用任何能够使如上述根据本发明方面(ii)的微生物的细胞滤出的方法。

术语“如上述根据本发明方面(ii)的微生物的无活性形式”包含如上述根据本发明方面(ii)的微生物的细胞的任何部分。优选地,所述无活性形式

是通过膜制备获得的膜部分。属于乳杆菌属的微生物的膜制备物可以通过本领域公知的方法获得，例如通过使用如 Rollan 等人, *Int. J. Food Microbiol.* 70 (2001), 303-307、Matsuquchi 等人, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10 (2003), 259-266 或 Stentz 等人, *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (2000), 4272-4278 或 Varmanen 等人, *J. Bacteriology* 182 (2000), 146-154 中描述的方法。可选择地，也可以利用全细胞制品。

根据本发明的组合物涉及这样的组合物，其包含：(i)微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和(ii)微生物，其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。优选地，术语“组合物”指如下(i)和(ii)的组合：(i)微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和(ii)微生物，其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。术语“组合”指技术人员已知的任何合适的浓度，例如，每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞浓度下的任何比例的(i)微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和(ii)微生物，其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液，所述比例在最多 0.001%的(i)和至少 99.999%的(ii)和至少 99.999%的(i)和最多 0.001%的(ii)之间。优选地，该术语指技术人员已知的任何合适的浓度，例如，每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度下的如下比

例：最多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii)，最多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii)，至少 99%的(i)和最多 1%的(ii)，至少 98%的(i)和最多 2%的(ii)，至少 95%的(i)和最多 5%的(ii)，至少 90%的(i)和最多 10%的(ii)，至少 80%的(i)和最多 20%的(ii)，至少 75%的(i)和最多 25%的(ii)，至少 70%的(i)和最多 30%的(ii)，最多 30%的(i)和至少 70%的(ii)，最多 25%的(i)和至少 75%的(ii)，最多 20%的(i)和至少 80%的(ii)，最多 10%的(i)和至少 90%的(ii)，最多 5%的(i)和至少 95%的(ii)，最多 2%的(i)和至少 98%的(ii)，至少 99%的(i)和最多 1%的(ii)，最多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii)，最多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii)。

更优选地，该术语指技术人员已知的任何合适的浓度，例如，每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度下的如下比例：至少 65%的(i)和最多 35%的(ii)，至少 60%的(i)和最多 40%的(ii)，至少 59%的(i)和最多 41%的(ii)，至少 58%的(i)和最多 42%的(ii)，至少 57%的(i)和最多 43%的(ii)，至少 56%的(i)和最多 44%的(ii)，至少 55%的(i)和最多 45%的(ii)，至少 54%的(i)和最多 46%的(ii)，至少 53%的(i)和最多 47%的(ii)，至少 52%的(i)和最多 48%的(ii)，至少 51%的(i)和最多 49%的(ii)，最多 49%的(i)和至少 51%的(ii)，最多 48%的(i)和至少 52%的(ii)，最多 47%的(i)和至少 53%的(ii)，最多 46%的(i)和至少 54%的(ii)，最多 45%的(i)和至少 55%的(ii)，最多 44%的(i)和至少 56%的(ii)，最多 43%的(i)和至少 57%的(ii)，最多 42%的(i)和至少 58%的(ii)，最多 41%的(i)和至少 59%的(ii)，最多 40%的(i)和至少 60%的(ii)，最多 35%的(i)和至少 65%的(ii)。

最优选地，该术语指技术人员已知的任何合适的浓度，例如，每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度下的如下比例：至少 50%的(i)和最多 50%的(ii)或最多 50%的(i)和至少 50%的(ii)。

优选地，术语“比例”仅仅指组合物中(i)和(ii)之间的比，从而，如本领域技术人员已知，术语“比例”不排除组合物中存在任何合适量或浓度的其他组分。

在进一步优选的实施方案中，根据本发明的方面(i)和(ii)的微生物的“组合”指微生物的组合，其中根据本发明的方面(i)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(ii)的微生物的生长，并且根据本发明的方面(ii)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(i)的微生物的生长。术语“负面影响”

优选指当与根据本发明的方面(ii)的微生物组合使用时,不会发现根据本发明的方面(i)的微生物的生长抑制并且当与根据本发明的方面(i)的微生物组合使用时,不会发现根据本发明的方面(ii)的微生物的生长抑制。

在优选实施方案中,在固体形式的组合物中,所述组合物包含每 mg 10^2 到 10^{12} 个细胞,优选 10^3 到 10^8 个细胞量的根据本发明的方面(i)的微生物和每 mg 10^2 到 10^{12} 个细胞,优选 10^3 到 10^8 个细胞量的根据本发明的方面(ii)的微生物。对于液体形式组合物的情况,根据本发明的方面(i)和(ii)的微生物的量为每 ml 10^2 到 10^{13} 个细胞。在进一步优选的实施方案中,所述组合物为乳液形式,例如,水包油或者油包水乳液、软膏剂形式或者微胶囊形式。在乳液、软膏剂或微胶囊的情况下,组合物包含每 ml 10^2 到 10^{13} 个细胞量的如本文所述的根据本发明方面(i)和(ii)的微生物。然而,对于具体组合物,微生物的量可以与本文所述的不同。

优选地,如根据本发明所有的术语“组合物”涉及组合物,其包含至少一种如上述根据本发明方面(i)的微生物或如上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和至少一种如上述本发明方面(ii)的微生物或如上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。设想如下文所述的本发明的组合物包含任何排列的上述组分。它可以任选包含至少一种适于保护皮肤对抗病原微生物的其他成分。因此,它可以任选保护下文所述的其他组分组的任何排列的混合物。术语“适于保护皮肤对抗病原微生物的成分”包括降低 pH 的化合物或组合物和/或其组合。

组合物可能是固体、液体或气体形式,尤其可能是粉末、溶液、气溶胶、悬浮液、乳状液、液体、酞剂、提取物、酞剂或流体提取物,或特别适合局部施用的形式。适合局部施用的形式包括例如糊剂、软膏、洗剂、乳膏、凝胶或透皮贴剂。

术语“组合物”也包括如下文进一步所述的纺织品组合物。

优选地,本发明的组合物是化妆品组合物,还包含化妆品的可接受的载体或赋形剂。更优选地,所述化妆品组合物是糊剂、软膏、洗剂、乳膏

或凝胶。

本发明的化妆品组合物包含上述本发明的方面(i)和(ii)的微生物, 上述其突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或滤液, 连同本发明的组合物和另外的化妆品可接受的载体。优选本发明的化妆品组合物用于局部施用。

此处所用的术语“化妆品可接受的载体”指适当的媒介物, 使用其可将本发明组合物以安全有效的方式应用于皮肤。此类媒介物可能包括例如乳浊液的物质, 例如水包油乳剂或油包水的乳剂、软膏或微胶囊。将活性成分以胶囊形式, 例如纤维素胶囊, 以明胶, 用聚酰胺、类脂囊泡、蜡模、环糊精或脂质体包裹来施用也是有利的。此处所用术语“安全有效量”指刺激根据本发明方面(i)的固有皮肤微生物菌群的至少一种微生物生长的足够量和抑制根据本发明方面(ii)的暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物生长的足够量。

本发明的另一方面涉及药物组合物, 其包含如上述本发明的方面(i)和方面(ii)的微生物或其突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或滤液, 还包含药物的可接受的载体或赋形剂。药物组合物优选以适合于局部施用的形式。

另一方面, 本发明涉及药盒。术语“药盒”指这样的药盒, 其包含: (i)微生物, 其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长, 或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和(ii)微生物, 其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长, 或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。优选地, 术语“药盒”指如下不同的容器单元形式的(i)和(ii)的组合: (i)微生物, 其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长, 或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和(ii)微生物, 其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并

且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长,或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。术语“不同的容器单元形式的组合”指任何比例的(i)微生物,其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长,或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和(ii)微生物,其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长,或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液,所述比例在最多 0.001%的(i)和至少 99.999%的(ii)和至少 99.999%的(i)和最多 0.001%的(ii)之间,所述组合为技术人员已知的任何合适的浓度,例如,每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度。优选地,该术语指如下比例:最多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii),最多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii),至少 99%的(i)和最多 1%的(ii),至少 98%的(i)和最多 2%的(ii),至少 95%的(i)和最多 5%的(ii),至少 90%的(i)和最多 10%的(ii),至少 80%的(i)和最多 20%的(ii),至少 75%的(i)和最多 25%的(ii),至少 70%的(i)和最多 30%的(ii),最多 30%的(i)和至少 70%的(ii),最多 25%的(i)和至少 75%的(ii),最多 20%的(i)和至少 80%的(ii),最多 10%的(i)和至少 90%的(ii),最多 5%的(i)和至少 95%的(ii),最多 2%的(i)和至少 98%的(ii),至少 99%的(i)和最多 1%的(ii),最多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii),最多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii),所述组合为技术人员已知的任何合适的浓度,例如,每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度。更优选地,该术语指如下比例:至少 65%的(i)和最多 35%的(ii),至少 60%的(i)和最多 40%的(ii),至少 59%的(i)和最多 41%的(ii),至少 58%的(i)和最多 42%的(ii),至少 57%的(i)和最多 43%的(ii),至少 56%的(i)和最多 44%的(ii),至少 55%的(i)和最多 45%的(ii),至少 54%的(i)和最多 46%的(ii),至少 53%的(i)和最多 47%的(ii),至少 52%的(i)和最多 48%的(ii),至少 51%的(i)和最多 49%的(ii),最多 49%的(i)和至少 51%的(ii),最多 48%的(i)和至少 52%的(ii),最多 47%的(i)和至少 53%的(ii),最多 46%的(i)和至少 54%的(ii),最多 45%的(i)和至少 55%的(ii),最多 44%的(i)和至少 56%的(ii),最多 43%的(i)

和至少 57%的(ii),最多 42%的(i)和至少 58%的(ii),最多 41%的(i)和至少 59%的(ii),最多 40%的(i)和至少 60%的(ii),最多 35%的(i)和至少 65%的(ii),所述组合为技术人员已知的任何合适的浓度,例如,每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度。更优选地,该术语指如下比例:至少 50%的(i)和最多 50%的(ii)或最多 50%的(i)和至少 50%的(ii),所述组合为技术人员已知的任何合适的浓度,例如,每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度,其中根据本发明方面(i)的微生物可以应用于不同于根据本发明方面(ii)的微生物的容器单元中。优选地,术语“比例”仅仅指药盒中(i)和(ii)之间的比,从而,如本领域技术人员已知,术语“比例”不排除药盒中存在任何合适量或浓度的其他组分。术语“容器单元”指本领域技术人员已知的任何合适的容器,例如,固体、液体、粉末、水性、冻干形式。优选地,该术语指本领域技术人员已知的任何合适的容器,其也包含(i)微生物,其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长,或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液或(ii)微生物,其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长,或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。

在进一步优选的实施方案中,根据本发明的方面(i)和(ii)的微生物的“药盒”指微生物的组合,其中根据本发明的方面(i)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(ii)的微生物的生长,并且根据本发明的方面(ii)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(i)的微生物的生长。术语“负面影响”指当与根据本发明的方面(ii)的微生物组合使用时,不会发现根据本发明的方面(i)的微生物的生长抑制并且当与根据本发明的方面(i)的微生物组合使用时,不会发现根据本发明的方面(ii)的微生物的生长抑制。

在优选实施方案中,在固体形式的组合物中,所述药盒包含每 mg 10^2 到 10^{12} 个细胞,优选 10^3 到 10^8 个细胞量的上述根据本发明的方面(i)的微生物和每 mg 10^2 到 10^{12} 个细胞,优选 10^3 到 10^8 个细胞量的上述根据本发明的方面(ii)的微生物。对于液体形式组合物的情况,根据本发明的方面(i)和

(ii)的微生物的量为每 ml 10^2 到 10^{13} 个细胞。在进一步优选的实施方案中,所述组合物为乳液形式,例如,水包油或者油包水乳液、软膏剂形式或者微胶囊形式。在乳液、软膏剂或微胶囊的情况下,组合物包含每 ml 10^2 到 10^{13} 个细胞量的如本文所述的根据本发明的方面(i)和(ii)的微生物。然而,对于具体组合物,微生物的量可以与本文所述的不同。

优选地,如根据本发明所用的术语“药盒”涉及这样的药盒,其包含至少一种如上述根据本发明方面(i)的微生物或如上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和至少一种如本文上述的本发明方面(ii)的微生物或如上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。设想如下文所述的本发明的药盒包含任何排列的上述组分。它可以任选包含至少一种适于保护皮肤对抗病原微生物的其他成分。因此,它可以任选包含下文所述的其他组分组的任何排列的混合物。术语“适于保护皮肤对抗病原微生物的成分”包括降低 pH 的化合物或组合物和/或其组合。

在进一步优选的实施方案中,如本文上述的药盒的容器单元进一步包装在药盒容纳单元中以产生单个、容易处理的单元,其中该药盒容纳单元,例如,盒子或者类似结构可以为或不为气密容器,例如,以进一步保存本发明的微生物直到使用。

根据本发明的药盒可以也包括怎样施用如上文所述的容器单元的使用说明。优选地,使用说明包括关于在哪里应用如上述的容器单元、给药方案、时间选择方案等等的信息。在进一步优选的实施方案中,药盒包括关于怎样使用如上述的容器单元治疗特定疾病状况的使用说明。

使用说明通常记录在合适的记录介质或基质上。例如,使用说明可以印刷在基质如纸或者塑料等上面。同样,使用说明可以存在于药盒中作为包装插页、存在于药盒容器或其组分的标签中(如与包装或亚包装结合),等等。在另一实施方案中,使用说明作为电子存储数据文件存在于合适的计算机可读存储介质,如 CD-ROM、磁盘等等上。在再一个实施方案中,实际的使用说明不存在于药盒中,但是提供了从远程资源得到使用说明的

手段，如通过因特网。该实施方案的一个实例是包括网址的药盒，从该网址可以查看使用说明和/或可以下载使用说明。关于使用说明，该得到使用说明的手段记录在合适的基质上。

药物组合物、药盒或者药盒的容器单元包含治疗有效量的本发明的方面(i)/(ii)的微生物或者本发明的衍生物或突变体或者如上述的本发明所述微生物的无活性形式并且可以以多种形式配制，例如，以固体、液体、粉剂、水性或冻干形式配制。药物组合物、药盒或者药盒的容器单元可以用药学上可接受的载体施用于患者，如本文所述。在特定实施方案中，术语“药学上可接受的”指得到管理机构批准或其他公认的药典认可用于动物，更具体用于人类中。

术语“载体”指用于实施治疗剂的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。此类载体是药物的可接受的，即其在所使用的剂量和浓度下对接受者无毒。其优选为等渗、低渗或微弱高渗的，并且具有相对低的离子强度，例如由蔗糖溶液提供。此类药物载体可以是无菌液体，例如水和油，包括那些来自石油、动物、植物或合成来源的油，例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等等。盐溶液和葡萄糖水和甘油溶液也可以作为液态载体使用。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、甘油单硬脂酰酯、滑石、钠离子、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等等。如果需要，组合物也可以含有少量湿润剂或乳化剂，或 pH 缓冲剂。这些组合物的形式可以是例如溶液、悬浮液、乳剂、粉末、持续释放制剂等等。合适的药物载体的实例在 E.W. Martin 的 "Remington Pharmaceutical Sciences" 中描述。可用作药物载体的物质的一些其它实例为糖，例如葡萄糖和蔗糖；淀粉，例如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素和其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和纤维素乙酸酯；粉末状 tragacanth；麦芽；明胶；滑石；硬脂酸；硬脂酸镁；硫酸钙；碳酸钙；植物油，例如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和可可油；多元醇，例如丙二醇、甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；琼脂；藻酸；无致热原水；等渗盐；蔓越橘提取物和磷酸盐缓冲液；脱脂奶粉；以

及其它用于药物制剂的无毒相容物质,例如维生素 C、雌激素和 *echinacea*。也可以存在湿润剂和润滑剂例如月桂硫酸钠、和着色剂、调味剂、润滑剂、赋形剂、压片剂、稳定剂、抗氧化剂和防腐剂。将活性成分以胶囊形式施用,例如纤维素胶囊,以明胶,用聚酰胺、类脂囊泡、蜡模、环糊精或脂质体包裹也是有利的。

通常,成分是例如作为干燥的冻干粉末或脱水浓缩物,在熔封容器如安瓿或标示活性物质的量的小袋中被分开或混合在一起,以单位剂型提供。

本发明的药物组合物、本发明的药盒或药盒容器单元可以以中性或盐形式配制。药物的可接受的盐包括与阴离子形成的那些,例如从盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等衍生的盐,和与阳离子形成的那些,例如从钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等衍生的盐。

可以任选地使用体外或原位测定方法,例如实施例中描述的那些方法,来帮助鉴定理想剂量范围。制剂所使用的精确剂量也依赖于给药途径,和疾病或病症的严重性,并且应该根据医生诊断和每个患者的情况来确定。优选局部给药途径。可以由体外或(动物)模型测试系统衍生的剂量效应曲线来推测有效剂量。优选地,药物组合物是直接施用或与佐剂结合施用。优选地,药盒或药盒容器单元也含有佐剂。佐剂可能选自氯喹,质子极性化合物,例如丙二醇、聚乙二醇、甘油、乙醇、1-甲基-(左旋)-2 吡咯烷酮或它们的衍生物,或非质子极性化合物,例如二甲基亚砜(DMSO)、二乙基亚砜、二-(正)丙基亚砜、二甲砜、环丁砜、二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺、四甲基脲、乙腈、或其衍生物。在 pH 限定条件下加入这些化合物。可以向脊椎动物施用本发明的组合物或药盒。此处所用“脊椎动物”意指与本领域普通技术人员通常所理解的含义一致。具体地,“脊椎动物”包括哺乳动物,特别是人。

术语“施用”指上述组合物或药盒容器单元的成分以治疗有效剂量施用。以“治疗有效剂量”指施用后产生效应的剂量,优选此效应保护皮肤对

抗病原微生物。精确的剂量依赖于治疗目的，而且将通过本领域技术人员使用已知技术来确定。正如本领域公知和前面所描述的，需要根据全身或局部的递送、年龄、体重、大致健康水平、性别、饮食、给药时间、药物相互作用和情况严重性进行调整，并且通过本领域那些技术人员用例行实验来确定。

本方法适用于人治疗和兽医应用。此处描述的具有预期治疗活性的化合物可能如此处所述以生理学上可接受的载体向患者施用。依赖于施用方式，化合物可能以如下讨论的多种方式配制。制剂中治疗上有活性化合物的浓度可以从约 0.01-100% 的重量百分比变化。该物质或药盒可以单独施用或与其它治疗组合施用。

可以通过多种方式施用药物组合物或药盒。优选的施用途径是局部途径。

剂量方案由主治医师和临床因素决定。正如医学领域内所熟知的，对于任一个患者的剂量依赖于许多因素，包括患者的尺寸、体表面积、年龄、具体施用的化合物、性别、给药时间和途径、大致健康水平、和其它同时施用的药物。通常剂量可以在例如 0.001-1000 μg 范围内；然而，特别是考虑到上述因素时，也可以使用低于或高于此范例范围的剂量。

优选该剂量每月施用一次、每周施用一次，更优选每周 2 次、3 次、4 次、5 次或 6 次，和最优选每天一次，甚至更优选每天 2 次或更多。特别优选每当固有皮肤菌群发生紊乱(例如通过清洗)之后给药。然而，在治疗进展过程中，可以以更长的时间间隔给药和按需要以更短的时间间隔给药，例如一天几次。在优选的情况下，用此处所述方法和本领域那些技术人员公知的其它方法来监测免疫应答，并优化给药剂量，例如时间、量和/或组分。通过定期评估来监测进展。药物组合物或药盒也可以应用于共治途径，即与其它药物或药品同时施用，例如其它保护皮肤对抗病原微生物的药品。

在优选实施方案中，如上文所述的各药盒容器单元可以同时或者在本领域技术人员认为合适的不同时间点施用。优选地，可以在施用包含根据

本发明方面(i)的微生物,即能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长、上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或滤出液的药盒容器单元后最多1分钟和最多3个月之间施用包含根据本发明方面(ii)的微生物,即能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长的微生物、上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或滤出液的药盒容器单元。更优选地,可以在施用包含根据本发明方面(i)的微生物的药盒容器单元后的最多10分钟、最多30分钟、最多1小时、最多2小时、最多4小时、最多6小时、最多10小时、最多12小时、最多18小时、最多2天、最多3天、最多4天、最多5天、最多6天、最多7天、最多2周、最多3周、最多4周或最多2个月之间施用包含根据本发明方面(ii)的微生物的药盒容器单元。甚至更优选地,可以在施用包含根据本发明方面(i)的微生物的药盒容器单元后最多20小时、最多30小时或最多36小时之间施用包含根据本发明方面(ii)的微生物的药盒容器单元。最优选地,可以在施用包含根据本发明方面(i)的微生物的药盒容器单元后最多24小时施用包含根据本发明方面(ii)的微生物的药盒容器单元。

在另一优选实施方案中,可以在施用包含根据本发明方面(ii)的微生物,即能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长的微生物、上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或滤出液的药盒容器单元后最多1分钟和最多3个月之间施用包含根据本发明方面(i)的微生物,即能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长、上述该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或滤出液的药盒容器单元施用。更优选地,可以在施用包含根据本发明方面(ii)的微生物的药盒容器单元后的最多10分钟、最多30分钟、最多1小时、最多2小时、最多4小时、最多6小时、最多10小时、最多12小时、最多18小时、最多2天、最多3天、最多4天、最多5天、最多6

天、最多 7 天、最多 2 周、最多 3 周、最多 4 周或最多 2 个月之间施用包含根据本发明方面(i)的微生物的药盒容器单元。甚至更优选地,可以在施用包含根据本发明方面(ii)的微生物的药盒容器单元后最多 20 小时、最多 30 小时或最多 36 小时之间施用包含根据本发明方面(i)的微生物的药盒容器单元。最优选地,可以在施用包含根据本发明方面(ii)的微生物的药盒容器单元后最多 24 小时施用包含根据本发明方面(i)的微生物的药盒容器单元。

当所希望的治疗涉及局部施用所容易接近的区域或器官时,本发明的化妆品组合物或药物组合物或药盒的局部施用是有用的。对于皮肤的局部应用,药物组合物、药盒或药盒容器单元优选以合适的糊剂、软膏、洗剂、乳膏、凝胶或透皮贴剂配制。依赖于使用的区域,化妆品或药物制剂也可以是喷雾(泵喷雾或气溶胶)、泡沫、凝胶喷雾、摩丝、悬浮液或粉末的形式。

合适的糊剂包含悬浮于载体中的活性成分。此类载体包括(但是不限于)石油、软白石蜡、黄色石油冻和甘油。

化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能以合适的软膏配制,该软膏包含悬浮或溶解于载体中的活性成分。此类载体包括(但是不限于)一种或多种甘油、矿物油、液体油、液体石油、白色石油、黄色石油冻、丙二醇、乙醇、甘油三酯、脂肪酸酯例如鲸蜡酯、聚氧乙烯-聚氧丙烯化合物、蜡例如白蜡或黄色蜂蜡、脂肪酸醇例如鲸蜡醇、硬脂酰醇和鲸蜡基硬脂酰醇、脂肪酸例如硬脂酸、鲸蜡基硬脂酸盐、羊毛脂、氢氧化镁、高岭土和水。

可选择地,化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能以合适的洗剂或乳膏配制,其包含悬浮或溶解于载体中的活性成分。此类载体包括(但是不限于)一种或多种矿物油例如石蜡、植物油例如蓖麻油、蓖麻籽油和氢化蓖麻油、失水山梨糖醇单硬脂酸酯、聚山梨酸酯、脂肪酸酯例如鲸蜡酯、蜡、脂肪酸醇例如鲸蜡醇、硬脂酰醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇、乙醇、甘油三酯和水。

可选择地，化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可以以合适的凝胶配制，其包含悬浮或溶解于载体中的活性成分。此类载体包括(但是不限于)一种或多种水、甘油、丙二醇、液状石蜡、聚乙烯、脂肪油、纤维素衍生物、皂土和胶态二氧化硅。

根据本发明的气溶胶的合适推进剂是常规的推进剂，例如丙烷、丁烷、戊烷和其它。

根据本发明的制剂通常包含更多的此类制剂通常使用的附加物，例如防腐剂、芳香剂、消泡剂、染料、色素、增稠剂、表面活性物质、乳化剂、润滑剂、修饰剂、脂肪、油脂、蜡类或其它常用组分，对于化妆品或皮肤病制剂，例如酒精、多元醇、聚合物、泡沫稳定剂、可溶促进剂、电解质、有机酸、有机溶剂、或硅氧烷衍生物。

根据本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元可能包含润滑剂。润滑剂以有效防止或减缓解干燥的量使用。有用的润滑剂包括(但不限于)：烃油和蜡；硅酮油；甘油三酯；乙酰甘油酯；乙氧基甘油酯；烷基酯；链烯基酯；脂肪酸；脂肪醇；脂肪醇醚；醚酯；羊毛脂和衍生物；多羟基醇(多元醇)和聚醚衍生物；多元醇酯；蜡酯；蜂蜡衍生物；植物蜡；磷脂；固醇；和酰胺。

因此，例如通常的润滑剂包括矿物油，特别是具有 50-500 SUS 粘性范围的矿物油，羊毛脂油，貂油，椰子油，可可脂，橄榄油，杏仁油，澳大利亚坚果油，芦荟抽提物，霍霍巴油，红花油，玉米油，液体羊毛脂，棉花子油，花生油，purcellin 油，全氢化角鲨烯(角鲨烯)，蓖麻油，聚丁烯，无味矿物精，甜杏仁油，鳄梨油，calophyllum 油，蓖麻毒蛋白油，维生素 E，橄榄油，矿物精，鲸蜡硬脂醇(主要由鲸蜡醇和硬脂醇组成的脂肪醇混合物)，亚麻醇，油醇，辛基十二醇，谷物种子油例如小麦胚油(鲸蜡硬脂醇和 2-乙基己酸酯)，鲸蜡基棕榈酸酯，二异丙基己二酸酯，棕榈酸异丙酯，棕榈酸辛酯，肉豆蔻酸异丙酯，肉豆蔻酸丁酯，丙三基硬脂酸盐，硬脂酸甘油酯，十六烷基硬脂酸酯，异鲸蜡基硬脂酸酯，硬脂酸辛酯，辛基羟硬脂酸酯，丙二醇硬脂酸酯，硬脂酸丁酯，油酸癸酯，油酸甘油酯，乙

酰基甘油酯, (C12-C15)醇辛酸酯和苯甲酸酯, 辛酸和癸酸的乙酯和多元醇酯例如它们的乙二醇酯和甘油酯, 和蓖麻毒蛋白油酸乙酯和多元醇酯例如异丙基己二酸醇酯, 月桂酸己醇酯, 十二烷酸辛酯, 聚二甲基硅氧烷共聚醇, 聚二甲基硅氧烷醇, 羊毛脂, 羊毛脂醇, 羊毛脂蜡, 氢化羊毛脂, 羟基羊毛脂, 乙酰羊毛脂, 凡士林, 羊毛脂酸异丙酯, 肉豆蔻酸鲸蜡醇酯, 肉豆蔻酸甘油酯, 肉豆蔻酸肉豆蔻酯, 肉豆蔻基乳酸酯, 鲸蜡醇, 异硬脂醇, 硬脂醇, 和异鲸蜡基羊毛脂等等。

而且, 根据本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能包含乳化剂。乳化剂(即乳化试剂)优选以有效提供组合物成分均匀混合的量使用。有用的乳化剂包括(i) 阴离子例如脂肪酸盐, 例如硬脂酸钾, 硬脂酸钠, 硬脂酸胺, 和硬脂酸三乙醇胺; 含脂肪酸盐的多元醇脂肪酸单酯, 例如包含钾或钠盐的单硬脂酸甘油酯; 硫酸酯(钠盐), 例如月桂基 5 硫酸钠, 鲸蜡基硫酸钠; 和含硫酸酯的多元醇脂肪酸单酯, 例如含月桂基硫酸钠的单硬脂酸甘油酯; (ii) 阳离子氯化物例如 N-(硬脂酰基羟乙胺基甲酰甲基)氯化吡啶鎓(N (Stearoyl Colamino Formylmethyl) pyridium); N-大豆-N-乙基吗啉乙基硫酸盐; 烷基二甲基苄基氯化铵; 二异丙基苯氧基噻吩甲氧基乙基二甲基苄基氯化铵; 和十六烷基氯化吡啶鎓; 和(iii) 非离子表面活性剂例如聚氧乙烯脂肪醇醚, 例如单硬脂酸酯; 聚氧乙烯月桂醇; 聚氧丙烯脂肪醇醚, 例如丙氧基油醇; 聚氧乙烯脂肪醇醚, 例如聚氧乙烯硬脂酸酯; 聚氧乙烯失水山梨糖醇脂肪醇醚, 例如聚氧乙烯失水山梨糖醇单硬脂酸酯; 失水山梨糖醇脂肪醇醚, 例如失水山梨糖醇; 聚乙二醇脂肪醇醚, 例如聚乙二醇单硬脂酸酯; 和多元醇脂肪醇醚, 例如单硬脂酸甘油酯和丙二醇单硬脂酸酯; 和乙氧基羊毛脂衍生物, 例如乙氧基羊毛脂, 乙氧基羊毛脂醇和乙氧基胆固醇。乳化剂的选择在 Schrader, Grundlagen und Rezepturen der Kosmetika, Hüthig Buch Verlag, Heidelberg, 第二版, 1989, 第三部分举例描述。

根据本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能包括表面活性剂。合适的表面活性剂包括例如那些通常的清洁剂、乳化剂、

增泡剂、助水溶物、增溶剂、悬浮剂和非表面活性剂(利于固体在液体中分散)。

表面活性剂通常分为两性、阴离子、阳离子和非离子型表面活性剂。两性表面活性剂包括酰基氨基酸和衍生物和 N-烃基氨基酸。阴离子表面活性剂包括：酰基氨基酸和盐，例如酰基谷氨酸、酰基肽、酰基肌氨酸盐和酰基牛磺酸盐；羧酸和盐，例如链烷酸、羧酸酯和羧酸醚；磺酸和盐，例如酰基羧乙基磺酸盐、烷基酰基磺酸盐、烷基磺酸盐和磺基丁二酸盐；硫酸酯，例如烷基醚硫酸酯和烷基硫酸酯。阳离子表面活性剂包括：烷基胺、烷基咪唑啉、乙氧基胺和四元盐(例如烷基苯二甲基铵盐、烷基甜菜碱、杂环铵盐和四烷基胺盐)。非离子型表面活性剂包括：醇，例如包含 8-18 个碳原子的伯醇；烷醇胺，例如烷醇胺衍生的酰胺和乙氧基酰胺；氧化胺；酯，例如乙氧基羧酸、乙氧基甘油酯、乙二醇酯和衍生物、甘油一酯、多聚甘油酯、多元醇酯和醚、失水山梨糖醇/山梨糖醇酯、和磷酸三酯；和醚，例如乙氧基乙醇、乙氧基羊毛脂、乙氧基聚硅氧烷和丙氧基聚氧乙烯醚。

此外，根据本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能包含成膜物。与本发明一致使用的合适成膜物使组合物光滑和平坦，且包括(不限于)：丙烯酰胺/丙烯酸钠共聚物；丙烯酸铵共聚物；秘鲁香脂；纤维素胶；乙烯/马来酸酐共聚物；羟乙基纤维素；羟丙基纤维素；聚丙烯酰胺；聚乙烯；聚乙烯醇；pvm/MA 共聚物(聚乙烯甲基醚/马来酸酐)；PVP(聚乙烯吡咯烷酮)；马来酸酐共聚物，例如从 Gulf 科学与技术获得的 PA-18；PVP/ 十六碳烯共聚物，例如从 GAF 公司获得的 Ganex V-216；Acryliacrylate 共聚物；等等。

通常，成膜物可能以总组合物重量的约 0.1%到约 10%的量使用，优选约 1%到约 8%，最优选约 0.1%到约 5%。也使用有效量的湿润剂，包括：果糖；葡萄糖；谷氨酸(glutamic acid)；甘油；蜂蜜；麦芽糖醇；甲基葡萄糖苷醚-10；甲基葡萄糖苷醚-20；丙二醇；乳酸钠；蔗糖；等等。

当然，本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能包含防腐剂。根据本发明的确定组合物的防腐剂包括(不限于)：对羟基

苯甲酸丁酯；对羟基苯甲酸乙酯；咪唑烷脒；对羟基苯甲酸甲酯；O-苯基苯酚；对羟基苯甲酸丙酯；季铵盐-14；季铵盐-15；脱氢醋酸钠；吡啶硫酮锌等。

防腐剂以防止或延缓微生物生长的有效量使用。通常，防腐剂以总组合物重量的约 0.1%到约 1%的量使用，优选约 1%到约 0.8%，最优选约 0.1%到约 0.5%。

根据本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能包含芳香剂。本领域那些技术人员熟知的芳香剂(芳香组分)和色素(着色剂)可能以赋予本发明的组合物、药盒或药盒容器单元希望的香味和颜色的有效量使用。

此外，本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元也可能包含蜡。与本发明一致使用的合适的蜡包括：动物蜡，例如蜂蜡、鲸蜡或羊毛蜡(羊毛脂)；植物蜡，例如巴西棕榈蜡或小烛树蜡；矿物蜡，例如褐煤蜡或地蜡；和石油蜡，例如石蜡和微晶蜡(高分子量的石油蜡)。动物、植物和一些矿物蜡主要是高分子量脂肪醇和高分子量脂肪酸形成的酯。例如，三十烷醇的棕榈酸酯是通常的蜂蜡的主要成分。根据本发明的其它合适的蜡包括合成蜡，其包括聚乙烯聚氧乙烯和由一氧化碳和氢衍生的烃基蜡。

典型的蜡也包括：地蜡；鲸蜡酯；氢化霍霍巴油；氢化霍霍巴蜡；氢化米糠蜡；日本蜡；霍霍巴乳脂；霍霍巴油；霍霍巴蜡；munk 蜡；褐煤酸蜡；小冠巴西棕蜡；米糠蜡；虫胶蜡；硫化霍霍巴油；合成蜂蜡；合成霍霍巴油；三羟基硬脂精；鲸蜡醇；硬脂醇；可可脂；羊毛脂脂肪酸；在 25 °C 为固体的单-、二-和 25 甘油三酯，例如甘油三(二十二烷酸)酯(二十二烷酸和甘油的三酯)和 C1g-C36 酸甘油三酯(C1g-C36 羧酸和甘油的三酯混合物)，其可从 Croda, Inc., New York, N.Y. 分别以商业名 Syncrowax HRC 和 Syncrowax HGL-C 获得；在 25 °C 为固体的脂肪酯；硅氧烷蜡例如甲基十八烷氧聚硅氧烷和多聚(二甲基硅氧烷基)硬脂氧硅氧烷；硬脂酰单-和二乙醇胺；松香和其衍生物，例如乙二醇和甘油的松香酸酯；25 °C

为固体的氢化油；和蔗糖甘油酯。增稠剂(粘性控制剂)可能以水系统中的有效量使用，其包括：藻胶；卡波姆例如卡波姆 934、934P、940 和 941；纤维素胶；鲸蜡硬脂醇、椰子酸二乙醇酰胺 DEA、糊精；明胶；羟乙基纤维素；羟丙基纤维素；羟丙基甲基纤维素；硅酸镁铝；肉豆蔻醇；燕麦粉；油酰胺 DEA；油醇；PEG-7M；PEG-14M；PEG-90M；硬脂酰胺 DEA；硬脂酰胺 MEA；硬脂醇；黄蓍胶；小麦淀粉；黄原胶；等等。上述列出的增稠剂中，DEA 是二乙醇胺，MEA 是乙醇胺。增稠剂(粘性控制剂)可能以非水系统中的有效量使用，其包括硬脂酸铝；蜂蜡；小烛树蜡；棕榈蜡；地蜡；鲸蜡硬脂醇；鲸蜡醇；胆固醇；水合二氧化硅；氢化蓖麻油；氢化棉花子油；氢化豆油；氢化牛油脂酸甘油酯；氢化植物油；羟丙基纤维素；羊毛脂醇；肉豆蔻醇；辛基十二醇硬脂酰硫酸酯；油醇；地蜡；微晶蜡；石蜡、季戊四醇四辛酸酯；聚丙烯酰胺；聚丁烯；聚乙烯；丙二醇二辛酸酯；丙二醇二壬酸酯；硬脂基二甲基苄基氯化铵和水辉石的反应产物(stearalkonium hectorite)；硬脂醇；硬脂酰硬脂酸酯；合成蜂蜡；三羟基硬脂酸甘油酯；三亚油酸甘油酯；三硬脂酸甘油酯；硬脂酸锌；等等。制剂中常见的天然和合成增稠剂或成胶物是交叉连接的聚丙烯酸和其衍生物，多糖例如黄原胶或藻酸盐、羧甲基纤维素或羟基羧甲基纤维素，水胶体例如阿拉伯胶，或蒙脱石矿例如皂土或脂肪醇，聚乙烯醇和聚乙烯吡咯烷酮。

根据本发明的化妆品的或药物的组合物、药盒或药盒容器单元中可以添加或使用的其它成分以它们预期使用的有效量使用，包括：提高性能或消费需求的生物学添加剂，例如氨基酸、蛋白质、香草、芦荟提取物、生物黄酮素等等；缓冲剂、螯合剂，例如 EDTA；乳化稳定剂；pH 调节剂；不透明剂；和推进剂，例如丁烷二氧化碳、乙烷、氢氟氟碳化合物 22 和 142b、氢氟烃 152a、异丁烷、异戊烷、氮、一氧化二氮、戊烷、丙烷等等。

此外，为了补充或促进其作用，根据本发明的制剂、药盒或药盒容器单元也可能包含抗氧化、自由基清除、增加皮肤水分或保湿、抗红斑、抗炎或抗过敏的化合物。具体地，这些化合物可以选自维生素、植物提取物、

α 和 β 羟基酸、神经酰胺、抗炎剂、抗菌剂或紫外过滤物质、及其衍生物和混合物。有利地，根据本发明的制剂或药盒也可能包含吸收 UV-B 和/或 UV-A 区域紫外辐射的物质。有利地，脂相选自矿物油、矿物蜡、分枝和/或非分枝烃和烃蜡、饱和和/或不饱和、分枝和/或非分枝 C_8 - C_{24} -烷羧酸的甘油三酯；它们也可选自合成、半合成或天然油脂，例如橄榄油、棕榈油、杏仁油或混合物；油、脂肪或蜡、饱和和/或不饱和酯、分枝和/或非分枝 C_3 - C_{30} -烷羧酸、和饱和和/或不饱和、分枝和/或非分枝 C_3 - C_{30} -醇，芳香族羧酸和饱和和/或不饱和、分枝和/或非分枝 C_3 - C_{30} -醇，例如肉豆蔻酸异丙酯、异丙基硬脂酸酯、己癸基硬脂酸酯、油酸油酯；也有此类酯的合成、半合成和天然混合物，例如霍霍巴油、烷基苯甲酸酯或硅酮油，例如环甲基硅氧烷、二甲基聚硅氧烷、二乙基聚硅氧烷、八甲基环四硅氧烷和其混合物或二烷基醚。

根据本发明的活性成分可能例如用于清洁皮肤的化妆品组合物，例如块状皂、香皂、乳白肥皂、透明皂、豪华皂、脱臭皂、膏状皂、婴儿皂、护肤皂、磨砂皂、合成洗涤剂、液体皂、糊状皂、软皂、洗涤糊剂、洗涤液、淋浴和沐浴制品例如洗涤剂、淋浴制品、淋浴凝胶剂、泡沫浴用剂、膏状泡沫浴用剂、油浴剂、沐浴精华液、擦洗制品、原位产品、剃须泡沫、刮脸洗剂、剃毛霜。另外，适合皮肤化妆品制剂的还有例如油包水或水包油皮肤和身体乳膏、日霜和晚霜、防晒组合物、晒后产品、护手产品、面霜、多重乳剂、啫喱、微乳剂、脂质体制剂、类脂囊泡制剂、防皱霜、面油、脂质体凝胶、运动凝胶剂、增湿霜、增白霜、维生素霜、皮肤洗剂、护理洗剂、安瓿、剃须后洗剂、剃须前洗剂(preshaves)、保湿洗剂、晒黑洗剂、脂肪霜、除色素组合物、按摩制品、身体粉末、面部滋补剂、除臭剂、止汗剂、鼻贴、抗痤疮组合物、驱虫剂和其它。

术语“活性成分”指例如，本发明的微生物、如上述的其实变体、衍生物、无活性形式、裂解物、级分或提取物。优选地，用于下文组合物中的术语“活性成分”是例如上文所述的微生物、其实变体、衍生物、无活性形式、裂解物、级分或提取物的替代用语。如果不另外指出，用于下文所述

组合物中的术语“活性成分”指例如根据本发明的微生物、其突变体、衍生物、无活性形式、裂解物、级分或提取物在组合物中的百分比。优选地，用于下述组合物中的术语“活性成分”指如下(i)和(ii)的组合：(i)微生物，其能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液和(ii)微生物，其能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长，或者如上述的该微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤出液。更优选地，术语“活性成分”指如上文定义的方面(i)的乳杆菌属物种和上文定义的方面(ii)的乳杆菌属物种的组合，其浓度为例如每 ml $10^2 - 10^{13}$ 个细胞。更优选地，术语“活性成分”指本领域技术人员已知的溶液，例如，水溶液或者任何其他合适的溶液，所述溶液包含高达 0.001% 到高达 99.999% 的如上文定义的方面(i)的乳杆菌属物种和上文定义的方面(ii)的乳杆菌属物种的组合，其为技术人员已知的任何合适的浓度，例如，每 ml $10^2 - 10^{13}$ 个细胞的浓度。甚至更优选地，该术语指包含高达 0.001%、0.01%、0.1%、1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、99.9%、99.99% 或 99.999%，最优选包含高达 0.001 到高达 5% 的如上文定义的根据方面(i)的乳杆菌属物种和根据方面(ii)的乳杆菌属物种的組合的溶液，所述组合为技术人员已知的任何合适的浓度，例如，每 ml $10^2 - 10^{13}$ 个细胞的浓度。

在优选的实施方案中，化妆品组合物包含日用护理水包油制剂，其可能含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

- | | | |
|---|-----|--------------------|
| A | 1.7 | 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇 |
| | 0.7 | 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚 |
| | 2.0 | 二乙基氨基羧基苯甲酰基苯甲酸己酯 |
| | 2.0 | PEG-14 聚二甲基硅氧烷 |
| | 3.6 | 十六/十八醇 |

- 6.0 甲氧基肉桂酸乙基己酯
2.0 己二酸二丁酯
B 5.0 甘油
1.0 泛醇
适量 防腐剂
68.6 软化水(aqua dem.)
C 4.0 辛/癸酸甘油三酯、丙烯酸钠共聚物
D 0.2 磷酸抗坏血酸钠
1.0 生育酚乙酸酯
0.2 红没药醇
1.0 辛/癸酸甘油三酯、抗坏血酸钠、维生素 E、维生素 A
1.0 活性成分
E 适量 氢氧化钠

活性成分 5%:

- A 1.7 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
0.7 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
2.0 二乙基氨基羟基苯甲酰基苯甲酸己酯
2.0 PEG-14 聚二甲基硅氧烷
3.6 十六/十八醇
6.0 甲氧基肉桂酸乙基己酯
2.0 己二酸二丁酯
B 5.0 甘油
1.0 泛醇
适量 防腐剂
64.6 软化水
C 4.0 辛/癸酸甘油三酯(辛/癸酸甘油三酯)、丙烯酸钠共聚物
D 0.2 磷酸抗坏血酸钠

1.0 生育酚乙酸酯

0.2 红没药醇

1.0 辛/癸酸甘油三酯、抗坏血酸钠、维生素 E、维生素 A

5.0 活性成分

E 适量 氢氧化钠

A 相和 B 相分别加热到约 80℃。随后将 B 相搅入 A 相并混匀。将 C 相搅入 A 相和 B 相混合物中并混匀。混合物在搅拌下冷却到约 40℃；加入 D 相并用 E 相调节 pH 值到约 6.5。随后将溶液混匀并冷却到室温。

在更优选的实施方案中，化妆品组合物包含保护性日霜水包油(O/W)制剂，其可含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

A 1.7 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇

0.7 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

2.0 二乙基氨基羟基苯甲酰基苯甲酸己酯

2.0 PEG-14 聚二甲基硅氧烷

3.6 十六/十八醇

6.0 甲氧基肉桂酸乙基己酯

2.0 己二酸二丁酯

B 5.0 甘油

1.0 泛醇

适量 防腐剂

68.8 软化水

C 4.0 辛/癸酸甘油三酯、丙烯酸钠共聚物

D 1.0 磷酸抗坏血酸钠

1.0 生育酚乙酸酯

0.2 红没药醇

1.0 活性成分

E 适量氢氧化钠

活性成分 5%:

- A** 1.7 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
 0.7 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
 2.0 二乙基氨基羟基苯甲酰基苯甲酸己酯
 2.0 PEG-14 聚二甲基硅氧烷
 3.6 十六/十八醇
 6.0 甲氧基肉桂酸乙基己酯
 2.0 己二酸二丁酯
- B** 5.0 甘油
 1.0 泛醇
 适量 防腐剂
 64.8 软化水
- C** 4.0 辛/癸酸甘油三酯、丙烯酸钠共聚物
- D** 1.0 磷酸抗坏血酸钠
 1.0 生育酚乙酸酯
 0.2 红没药醇
 5.0 活性成分
- E** 适量 氢氧化钠

A 相和 B 相分别加热到约 80℃。随后将 B 相搅入 A 相并混匀。将 C 相引入 A 相和 B 相混合物中并混匀。混合物在搅拌下冷却到约 40℃；加入 D 相并用 E 相调节 pH 值到约 6.5。随后将溶液混匀并冷却到室温。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含皮肤清洁剂水包油制剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%:

- A** 10.0 乙基己酸十六/十八酯
 10.0 辛/癸酸甘油三酯

- 1.5 环戊硅氧烷, 环己硅氧烷
- 2.0 PEG-40 氢化蓖麻油
- B 3.5 辛/癸酸甘油三酯, 丙烯酸钠共聚物
- C 1.0 生育酚乙酸酯
- 0.2 红没药醇
- 适量 防腐剂
- 适量 芳香油
- D 3.0 polyquaternium-44
- 0.5 椰油基三甲基甲基硫酸铵
- 0.5 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 2.0 泛醇, 丙二醇
- 4.0 丙二醇
- 1.0 活性成分
- 60.7 软化水

活性成分 5%:

- A 10.0 乙基己酸十六/十八酯
- 10.0 辛/癸酸甘油三酯
- 1.5 环戊硅氧烷, 环己硅氧烷
- 2.0 PEG-40 氢化蓖麻油
- B 3.5 辛/癸酸甘油三酯, 丙烯酸钠共聚物
- C 1.0 生育酚乙酸酯
- 0.2 红没药醇
- 适量 防腐剂
- 适量 芳香油
- D 3.0 polyquaternium-44
- 0.5 椰油基三甲基甲基硫酸铵
- 0.5 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

2.0 泛醇, 丙二醇

4.0 丙二醇

5.0 活性成分

56.8 软化水

首先, 将 A 相溶解并随后将 B 相搅拌入 A 相中。随后, 向 A 和 B 相的组合中导入 C 相。在下一步, 溶解 D 相并导入 A、B 和 C 相的组合中。将混合物混匀并搅拌 15 分钟。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含日用护理身体喷雾制剂, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 3.0 甲氧基肉桂酸乙基己酯
2.0 二乙基氨基羧基苯甲酰基苯甲酸己酯
1.0 polyquaternium-44
3.0 丙二醇
2.0 泛醇, 丙二醇
1.0 环戊硅氧烷, 环己硅氧烷
10.0 辛基十二烷醇
0.5 PVP
10.0 辛/癸酸甘油三酯
3.0 C12-15 烷基苯甲酸酯
3.0 甘油
1.0 生育酚乙酸酯
0.3 红没药醇
1.0 活性成分
59.2 酒精

活性成分 5%:

- A
- 3.0 甲氧基肉桂酸乙基己酯
 - 2.0 二乙基氨基羟基苯甲酰基苯甲酸己酯
 - 1.0 polyquaternium-44
 - 3.0 丙二醇
 - 2.0 泛醇, 丙二醇
 - 1.0 环戊硅氧烷, 环己硅氧烷
 - 10.0 辛基十二烷醇
 - 0.5 PVP
 - 10.0 辛/癸酸甘油三酯
 - 3.0 C12-15 烷基苯甲酸酯
 - 3.0 甘油
 - 1.0 生育酚乙酸酯
 - 0.3 红没药醇
 - 5.0 活性成分
 - 55.2 酒精

称出 A 相的组分并溶解至澄清。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含皮肤凝胶剂, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- 3.6 PEG-40 氢化蓖麻油
 - 15.0 酒精
 - 0.1 红没药醇
 - 0.5 生育酚乙酸酯
 - 适量 芳香油
- B
- 3.0 泛醇
 - 0.6 卡波姆
 - 1.0 活性成分

- 75.4 软化水
C 0.8 三乙醇胺

活性成分 5%:

- 3.6 PEG-40 氢化蓖麻油
15.0 酒精
0.1 红没药醇
0.5 生育酚乙酸酯
适量 芳香油
B 3.0 泛醇
0.6 卡波姆
5.0 活性成分
71.4 软化水
C 0.8 三乙醇胺

首先将 A 相溶解至澄清。将 B 相浸软并且随后用 C 相中和。下一步，将 A 相搅入混匀的 B 相中，并将混合物混匀。

在仍然更优选的实施方案中，化妆品组合物包含剃须后洗剂，其可含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 10.0 乙基己酸十六/十八酯
5.0 生育酚乙酸酯
1.0 红没药醇
0.1 芳香油
0.3 丙烯酸酯/丙烯酸 c10-30 烷基酯交联聚合物
B 15.0 酒精
1.0 泛醇

- 3.0 甘油
- 1.0 活性成分
- 0.1 三乙醇胺
- 63.5 软化水

活性成分 5%:

- A 10.0 乙基己酸十六/十八酯
- 5.0 生育酚乙酸酯
- 1.0 红没药醇
- 0.1 芳香油
- 0.3 丙烯酸酯/丙烯酸 c10-30 烷基酯交联聚合物
- B 15.0 酒精
- 1.0 泛醇
- 3.0 甘油
- 5.0 活性成分
- 0.1 三乙醇胺
- 59.5 软化水

将 A 相的成分混合。下一步，将 B 相溶解并导入 A 相中，随后混匀。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含日晒后洗剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 0.4 丙烯酸酯/丙烯酸 c10-30 烷基酯交联聚合物
- 15.0 乙基己酸十六/十八酯
- 0.2 红没药醇
- 1.0 生育酚乙酸酯
- 适量 芳香油
- B 1.0 泛醇

- 15.0 酒精
- 3.0 甘油
- 1.0 活性成分
- 63.2 软化水
- C 0.2 三乙醇胺

活性成分 1%:

- A 0.4 丙烯酸酯/丙烯酸 c10-30 烷基酯交联聚合物
- 15.0 乙基己酸十六/十八酯
- 0.2 红没药醇
- 1.0 生育酚乙酸酯
- 适量 芳香油
- B 1.0 泛醇
- 15.0 酒精
- 3.0 甘油
- 5.0 活性成分
- 59.2 软化水
- C 0.2 三乙醇胺

将 A 相的成分混合。将 B 相导入 A 相中并混匀。混合物用 C 相中和并随后混匀。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含身体香脂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
- 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 5.0 乙基己酸十六/十八酯
- 4.0 鲸蜡醇

	4.0	硬脂酸甘油酯
	5.0	矿物油
	0.2	薄荷醇
	0.5	樟脑
B	69.3	软化水
	适量	防腐剂
C	1.0	红没药醇
	1.0	生育酚乙酸酯
D	1.0	活性成分
	5.0	金缕梅提取物

活性成分 5%:

A	2.0	十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
	2.0	十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
	5.0	乙基己酸十六/十八酯
	4.0	鲸蜡醇
	4.0	硬脂酸甘油酯
	5.0	矿物油
	0.2	薄荷醇
	0.5	樟脑
B	65.3	软化水
	适量	防腐剂
C	1.0	红没药醇
	1.0	生育酚乙酸酯
D	5.0	活性成分
	5.0	金缕梅提取物

将 A 和 B 相分别加热到约 80°C。随后将 B 相搅拌入 A 相中并匀浆。混合物在搅拌下冷却到约 40°C; 然后, 加入 C 和 D 相。随后, 将混合物

混匀并在搅拌下冷却到室温。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含具有红没药醇的 W/O 乳剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

A	6.0	PEG-7 氢化蓖麻油
	8.0	乙基己酸十六/十八酯
	5.0	肉豆蔻酸异丙酯
	15.0	矿物油
	0.3	硬脂酸镁
	0.3	硬脂酸铝
	2.0	PEG-45/十二烷基甘醇共聚物
B	5.0	甘油
	0.7	硫酸镁
	55.6	软化水
C	1.0	活性成分
	0.5	生育酚乙酸酯
	0.6	红没药醇

活性成分 5%：

A	6.0	PEG-7 氢化蓖麻油
	8.0	乙基己酸十六/十八酯
	5.0	肉豆蔻酸异丙酯
	15.0	矿物油
	0.3	硬脂酸镁
	0.3	硬脂酸铝
	2.0	PEG-45/十二烷基甘醇共聚物
B	5.0	甘油

- 0.7 硫酸镁
- 51.6 软化水
- C 5.0 活性成分
- 0.5 生育酚乙酸酯
- 0.6 红没药醇

将 A 和 B 相分别加热到约 85°C。随后将 B 相搅拌入 A 相中并匀浆。混合物在搅拌下冷却到约 40°C；然后，加入 C 相。随后，将混合物短暂混匀并在搅拌下冷却到室温。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含具有保持剂(holding agent)的摩丝护发素，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 10.0 PVP/VA 共聚物
- 0.2 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵
- 0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷
- 适量 芳香油
- 10.0 酒精
- 1.0 活性成分
- 68.1 软化水
- 10.0 丙烷/丁烷

活性成分 5%:

- A 10.0 PVP/VA 共聚物
- 0.2 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵
- 0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷

适量 芳香油

10.0 酒精

5.0 活性成分

64.1 软化水

10.0 丙烷/丁烷

称出 A 相的组分并搅拌直到完全溶解。随后将混合物装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含摩丝护发素，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

A 1.0 polyquaternium-4

0.5 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵

1.0 活性成分

适量 芳香油

适量 防腐剂

91.5 软化水

6.0 丙烷/丁烷

活性成分 5%：

A 1.0 polyquaternium-4

0.5 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵

5.0 活性成分

适量 芳香油

适量 防腐剂

87.5 软化水

6.0 丙烷/丁烷

称出 A 相的组分并搅拌直到澄清溶解。随后将混合物装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含摩丝护发素，其可以含有

例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 1.0 polyquaternium-11
 0.5 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵
 1.0 活性成分
 适量 芳香油
 适量 防腐剂
 91.5 软化水
 6.0 丙烷/丁烷

活性成分 5%:

- A 1.0 polyquaternium-11
 0.5 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵
 5.0 活性成分
 适量 芳香油
 适量 防腐剂
 87.5 软化水
 6.0 丙烷/丁烷

称出 A 相的组分并搅拌直到澄清溶解。随后将混合物装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含定型泡沫，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 0.5 月桂基聚氧乙烯(4)醚
 适量 芳香油
B 77.3 软化水
 10.0 polyquaternium-28

- 1.0 活性成分
- 0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷
- 0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 0.2 泛醇
- 0.1 PEG-25 PABA
- 0.2 羟乙基纤维素
- C 10.0 HFC 152 A

活性成分 5%:

- A 0.5 月桂基聚氧乙烯(4)醚
- 适量 芳香油
- B 73.3 软化水
- 10.0 polyquaternium-28
- 5.0 活性成分
- 0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷
- 0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 0.2 泛醇
- 0.1 PEG-25 PABA
- 0.2 羟乙基纤维素
- C 10.0 HFC 152 A

将 A 相的组分混合。然后，将 B 相的组分连续加入并溶解。混合物与 C 相装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含定型泡沫，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 2.0 椰油基三甲基甲基硫酸铵
- 适量 芳香油

- B 78.5 软化水**
 - 6.7 丙烯酸酯共聚物**
 - 0.6 AMP**
 - 1.0 活性成分**
 - 0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷**
 - 0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚**
 - 0.2 泛醇**
 - 0.1 PEG-25 PABA**
 - 0.2 羟乙基纤维素**
- C 10.0 HFC 152 A**

活性成分 5%:

- A 2.0 椰油基三甲基甲基硫酸铵**
 - 适量 芳香油**
- B 74.5 软化水**
 - 6.7 丙烯酸酯共聚物**
 - 0.6 AMP**
 - 5.0 活性成分**
 - 0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷**
 - 0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚**
 - 0.2 泛醇**
 - 0.1 PEG-25 PABA**
 - 0.2 羟乙基纤维素**
- C 10.0 HFC 152 A**

将 A 相的组分混合。然后, 将 B 相的组分连续加入并溶解。混合物与 C 相装瓶。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含定型泡沫, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 2.0 椰油基三甲基甲基硫酸铵**
适量 芳香油
- B 7.70 polyquaternium-44**
1.0 活性成分
适量 防腐剂
79.3 软化水
- C 10.0 丙烷/丁烷**

活性成分 5%:

- A 2.0 椰油基三甲基甲基硫酸铵**
适量 芳香油
- B 7.70 polyquaternium-44**
5.0 活性成分
适量 防腐剂
75.3 软化水
- C 10.0 丙烷/丁烷**

将 A 相的组分混合。将 B 相的组分溶解直到不混浊并随后搅拌到 A 相中。调节 pH 至 6-7。混合物与 C 相装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含定型泡沫，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 2.00 椰油基三甲基甲基硫酸铵**
适量 芳香油
- B 72.32 软化水**
2.00 VP/丙烯酸酯/甲基丙烯酸月桂酯共聚物

0.53 AMP

1.00 活性成分

0.20 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

0.50 泛醇

0.05 5-苯甲酰基-4-羟基-2-甲氧基苯磺酸

0.20 氨基封端的聚二甲基硅氧烷, 十六烷基三甲基氯化铵, 十三烷基聚氧乙烯(12)醚

15.00 酒精

C 0.20 羟乙基纤维素

D 6.00 丙烷/丁烷

活性成分 5%:

A 2.00 椰油基三甲基甲基硫酸铵

适量 芳香油

B 68.32 软化水

2.00 VP/丙烯酸酯/甲基丙烯酸月桂酯共聚物

0.53 AMP

5.00 活性成分

0.20 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

0.50 泛醇

0.05 5-苯甲酰基-4-羟基-2-甲氧基苯磺酸

0.20 氨基封端的聚二甲基硅氧烷, 十六烷基三甲基氯化铵, 十三烷基聚氧乙烯(12)醚

15.00 酒精

C 0.20 羟乙基纤维素

D 6.00 丙烷/丁烷

将 A 相的组分混合。然后, 将 B 相的组分连续加入并溶解。C 相溶解在 A 和 B 的混合物中。随后, 调节 pH 至 6-7 并将混合物与 D 相装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含定型泡沫，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

A 2.00 十六烷基三甲基氯化铵

适量 芳香油

B 67.85 软化水

7.00 polyquaternium-46

1.00 活性成分

0.20 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

0.50 泛醇

0.05 5-苯甲酰基-4-羟基-2-甲氧基苯磺酸

0.20 氨基封端的聚二甲基硅氧烷，十六烷基三甲基氯化铵，十三烷基聚氧乙烯(12)醚

15.00 酒精

C 0.20 羟乙基纤维素

D 6.00 丙烷/丁烷

活性成分 5%：

A 2.00 十六烷基三甲基氯化铵

适量 芳香油

B 63.85 软化水

7.00 polyquaternium-46

5.00 活性成分

0.20 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

0.50 泛醇

0.05 5-苯甲酰基-4-羟基-2-甲氧基苯磺酸

0.20 氨基封端的聚二甲基硅氧烷，十六烷基三甲基氯化铵，十

三烷基聚氧乙烯(12)醚

15.00 酒精

C 0.20 羟乙基纤维素

D 6.00 丙烷/丁烷

将 A 相的组分混合。然后, 将 B 相的组分连续加入并溶解。C 相溶解在 A 和 B 的混合物中。随后, 调节 pH 至 6-7 并将混合物与 D 相装瓶。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含定型泡沫, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

A 适量 PEG-40 氢化蓖麻油

适量 芳香油

85.5 软化水

B 7.0 聚苯乙烯磺酸钠

1.0 活性成分

0.5 十六烷基三甲基溴化铵

适量 防腐剂

C 6.0 丙烷/丁烷

活性成分 5%:

A 适量 PEG-40 氢化蓖麻油

适量 芳香油

81.5 软化水

B 7.0 聚苯乙烯磺酸钠

5.0 活性成分

0.5 十六烷基三甲基溴化铵

适量 防腐剂

C 6.0 丙烷/丁烷

溶解 A 相。然后称出 B 相到 A 相中并溶解直到不混浊。调节 pH 到 6-7 并将混合物与 C 相装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含定型泡沫，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

- | | | |
|---|------|-------------------|
| A | 适量 | PEG-40 氢化蓖麻油 |
| | 适量 | 芳香油 |
| | 92.0 | 软化水 |
| B | 0.5 | polyquaternium-10 |
| | 1.0 | 活性成分 |
| | 0.5 | 十六烷基三甲基溴化铵 |
| | 适量 | 防腐剂 |
| C | 6.0 | 丙烷/丁烷 |

活性成分 5%：

- | | | |
|---|------|-------------------|
| A | 适量 | PEG-40 氢化蓖麻油 |
| | 适量 | 芳香油 |
| | 88.0 | 软化水 |
| B | 0.5 | polyquaternium-10 |
| | 5.0 | 活性成分 |
| | 0.5 | 十六烷基三甲基溴化铵 |
| | 适量 | 防腐剂 |
| C | 6.0 | 丙烷/丁烷 |

溶解 A 相。然后称出 B 相到 A 相中并溶解直到不混浊。调节 pH 到 6-7 并将混合物与 C 相装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含定型泡沫，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%:

- A** 适量 PEG-40 氢化蓖麻油
适量 芳香油
82.5 软化水
- B** 10.0 polyquaternium-16
1.0 活性成分
0.5 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵
适量 防腐剂
- C** 6.0 丙烷/丁烷

活性成分 5%:

- A** 适量 PEG-40 氢化蓖麻油
适量 芳香油
78.5 软化水
- B** 10.0 polyquaternium-16
5.0 活性成分
0.5 羟基乙基十六烷基二甲基磷酸铵
适量 防腐剂
- C** 6.0 丙烷/丁烷

溶解 A 相。然后称出 B 相到 A 相中并溶解直到不混浊。调节 pH 到 6-7 并将混合物与 C 相装瓶。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含定型泡沫，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A** 2.0 椰油基三甲基甲基硫酸铵
适量 芳香油

- B 84.0 软化水**
2.0 脱乙酰壳多糖
1.0 活性成分
0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷
0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
0.2 泛醇
0.1 PEG-25 PABA
- C 10.0 HFC 152 A**

活性成分 5%:

- A 2.0 椰油基三甲基甲基硫酸铵**
适量 芳香油
- B 80.0 软化水**
2.0 脱乙酰壳多糖
5.0 活性成分
0.5 含聚氧乙烯或聚氧丙烯侧链的聚二甲基硅氧烷
0.2 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
0.2 泛醇
0.1 PEG-25 PABA
- C 10.0 HFC 152 A**

将 A 相的组分混合。然后, 将 B 相的组分连续加入并溶解。混合物与 C 相装瓶。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含护理香波, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 30.0 月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠**
6.0 N-椰油酰胺基乙基-N-羟基乙基氨基乙酸钠

6.0 椰油酰胺基丙基甜菜碱

3.0 月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠, 二硬脂酸乙二醇酯, 椰油酰基单乙醇胺, 月桂基聚氧乙烯(10)醚

1.0 活性成分

7.7 polyquaternium-44

2.0 氨基封端的聚二甲基硅氧烷

适量 芳香油

适量 防腐剂

1.0 氯化钠

43.3 软化水

B 适量 柠檬酸

活性成分 5%:

A 30.0 月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠

6.0 N-椰油酰胺基乙基-N-羟基乙基氨基乙酸钠

6.0 椰油酰胺基丙基甜菜碱

3.0 月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠, 二硬脂酸乙二醇酯, 椰油酰基单乙醇胺, 月桂基聚氧乙烯(10)醚

5.0 活性成分

7.7 polyquaternium-44

2.0 氨基封端的聚二甲基硅氧烷

适量 芳香油

适量 防腐剂

1.0 氯化钠

39.3 软化水

B 适量 柠檬酸

将 A 相的组分混合并溶解。然后, pH 用 B 相即柠檬酸调节至 6-7。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含淋浴凝胶, 其可以含有例

如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 40.0 月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠
 5.0 癸基葡糖苷
 5.0 椰油酰胺基丙基甜菜碱
 1.0 活性成分
 1.0 泛醇
 适量 芳香油
 适量 防腐剂
 2.0 氯化钠
 46.0 软化水
B 适量 柠檬酸

活性成分 5%:

- A 40.0 月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠
 5.0 癸基葡糖苷
 5.0 椰油酰胺基丙基甜菜碱
 5.0 活性成分
 1.0 泛醇
 适量 芳香油
 适量 防腐剂
 2.0 氯化钠
 42.0 软化水
B 适量 柠檬酸

将 A 相的组分混合并溶解。然后, pH 用 B 相即柠檬酸调节至 6-7。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含香波, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

A	40.0	月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠
	5.0	C12-15 烷基聚氧乙烯醚磺酸钠(sodium C12-15 pareth-15 sulfonate)
	5.0	癸基葡糖苷
	适量	芳香油
	0.1	植三醇(phytantriol)
	44.6	软化水
	1.0	活性成分
	0.3	polyquaternium-10
	1.0	泛醇
	适量	防腐剂
	1.0	月桂基聚氧乙烯(3)醚
	2.0	氯化钠

活性成分 5%:

A	40.0	月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠
	5.0	C12-15 烷基聚氧乙烯醚磺酸钠
	5.0	癸基葡糖苷
	适量	芳香油
	0.1	植三醇
	40.6	软化水
	5.0	活性成分
	0.3	polyquaternium-10
	1.0	泛醇
	适量	防腐剂
	1.0	月桂基聚氧乙烯(3)醚

2.0 氯化钠

将 A 相的组分混合并溶解。然后, pH 用柠檬酸调节至 6-7。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含香波, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

A 15.00 椰油酰胺基丙基甜菜碱

10.00 N-椰油酰胺基乙基-N-羧基乙基氨基二乙酸二钠(disodium cocoamphodiacetate)

5.00 失水山梨醇聚氧乙烯(20)醚月桂酸酯

5.00 癸基葡糖苷

适量 芳香油

适量 防腐剂

1.00 活性成分

0.15 瓜儿豆胶羧丙基三甲基氯化铵

2.00 月桂基聚氧乙烯(3)醚

58.00 软化水

适量 柠檬酸

B 3.00 PEG-150 二硬脂酸酯

活性成分 5%:

A 15.00 椰油酰胺基丙基甜菜碱

10.00 N-椰油酰胺基乙基-N-羧基乙基氨基二乙酸二钠

5.00 失水山梨醇聚氧乙烯(20)醚月桂酸酯

5.00 癸基葡糖苷

适量 芳香油

适量 防腐剂

5.00 活性成分

0.15 瓜儿豆胶羟丙基三甲基氯化铵

2.00 月桂基聚氧乙烯(3)醚

54.00 软化水

适量 柠檬酸

B 3.00 PEG-150 二硬脂酸酯

称出并溶解 A 相的组分。调节 pH 至 6-7。然后，加入 B 相并加热至 50°C。混合物在搅拌下冷却至室温。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含保湿身体护理霜，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

A 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇

3.0 乙基己酸十六/十八酯

1.0 聚二甲基硅氧烷

4.0 十六/十八醇

3.0 硬脂酸甘油酯 SE

5.0 矿物油

4.0 霍霍巴油

3.0 矿物油,羊毛脂醇

B 5.0 丙二醇

1.0 活性成分

1.0 泛醇

0.5 硅酸镁铝

适量 防腐剂

65.5 软化水

C 适量 芳香油

D 适量 柠檬酸

活性成分 5%:

- A** 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
 3.0 乙基己酸十六/十八酯
 1.0 聚二甲基硅氧烷
 4.0 十六/十八醇
 3.0 硬脂酸甘油酯 se
 5.0 矿物油
 4.0 加州希蒙得木(好好霸树) 种子油
 3.0 矿物油,羊毛脂醇
- B** 5.0 丙二醇
 5.0 活性成分
 1.0 泛醇
 0.5 硅酸镁铝
 适量 防腐剂
 61.5 软化水
- C** 适量 芳香油
- D** 适量 柠檬酸

将 A 相和 B 相单独加热到约 80°C。快速预混匀 B 相。随后,将 B 相搅拌入 A 相中并混匀。混合物冷却至约 40°C;然后,加入 C 相。随后,将混合物充分混匀。用 D 相,即柠檬酸调节 pH 至 6-7。

在另一优选实施方案中,化妆品组合物包含保湿身体护理霜,其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A** 6.0 PEG-7 氢化蓖麻油
 10.0 乙基己酸十六/十八酯

- 5.0 肉豆蔻酸异丙酯
- 7.0 矿物油
- 0.5 牛油树脂 (牛油树果)
- 0.5 硬脂酸铝
- 0.5 硬脂酸镁
- 0.2 红没药醇
- 0.7 quaternium-18-hectorite
- B 5.0 二丙二醇
- 0.7 硫酸镁
- 适量 防腐剂
- 62.9 软化水
- C 适量 芳香油
- 1.0 活性成分

活性成分 5%:

- A 6.0 PEG-7 氢化蓖麻油
- 10.0 乙基己酸十六/十八酯
- 5.0 肉豆蔻酸异丙酯
- 7.0 矿物油
- 0.5 牛油树脂 (牛油树果)
- 0.5 硬脂酸铝
- 0.5 硬脂酸镁
- 0.2 红没药醇
- 0.7 quaternium-18-hectorite
- B 5.0 二丙二醇
- 0.7 硫酸镁
- 适量 防腐剂
- 58.9 软化水

C 适量 芳香油**5.0 活性成分**

将 A 相和 B 相单独加热到约 80°C。将 B 相搅拌入 A 相中并混匀。混合物在搅拌下冷却至约 40°C;然后,加入 C 相。随后,将混合物匀浆。搅拌下将混合物冷却至室温。

在另一优选实施方案中,化妆品组合物包含止汗滚珠 (antitranspiration roll-on), 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- | | | |
|----------|-------------|--------------------------|
| A | 0.40 | 羟乙基纤维素 |
| | 50.0 | 软化水 |
| B | 25.0 | 酒精 |
| | 0.1 | 红没药醇 |
| | 0.3 | 法尼醇 |
| | 2.0 | PEG-40 氢化蓖麻油 |
| | 适量 | 芳香油 |
| C | 3.0 | 二丙二醇 |
| | 3.0 | PEG-14 聚二甲基硅氧烷 |
| | 3.0 | polyquaternium-16 |
| | 8.2 | 软化水 |
| D | 1.0 | 活性成分 |

活性成分 5%:

- | | | |
|----------|-------------|---------------|
| A | 0.40 | 羟乙基纤维素 |
| | 46.0 | 软化水 |
| B | 25.0 | 酒精 |
| | 0.1 | 红没药醇 |

- 0.3 法尼醇
- 2.0 PEG-40 氢化蓖麻油
- 适量 芳香油
- C 3.0 二丙二醇
- 3.0 PEG-14 聚二甲基硅氧烷
- 3.0 polyquaternium-16
- 8.2 软化水
- D 5.0 活性成分

将 A 相溶胀，独立地溶解 B 和 C 相。随后，将 B 和 A 相搅拌入 C 相中。最后，加入 D 相。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含透明香体膏(transparent deo stick)，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

- A 3.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 3.0 PEG-40 氢化蓖麻油
- 0.2 消旋红没药醇
- 1.0 生育酚乙酸酯
- 3.0 芳香油
- 5.0 硬脂酸钠
- 15.0 甘油 87%
- 60.0 丙二醇
- 9.3 软化水
- B 1.0 活性成分

活性成分 5%：

- A 3.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

	3.0	PEG-40 氢化蓖麻油
	0.2	消旋红没药醇
	1.0	生育酚乙酸酯
	3.0	芳香油
	5.0	硬脂酸钠
	15.0	甘油 87%
	60.0	丙二醇
	5.3	软化水
B	5.0	活性成分

称出 A 相的组分并溶解。随后，加入 B 相。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含抗出汗喷雾剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

A	3.0	PEG-40 氢化蓖麻油
	0.2	植三醇
	0.5	芳香油
	40.0	酒精
B	53.49	软化水
	2.0	丙二醇
	0.5	泛醇
	0.01	BHT
C	1.0	活性成分

活性成分 5%：

A	3.0	PEG-40 氢化蓖麻油
	0.2	植三醇

- 0.5 芳香油
- 40.0 酒精
- B 49.49 软化水
- 2.0 丙二醇
- 0.5 泛醇
- 0.01 BHT
- C 5.0 活性成分

将 A 相溶解。在下一步，将 B 相的组分连续加入。最后，加入 C 相。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含香体膏，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 26.0 硬脂醇
- 60.0 环戊硅氧烷, 环己硅氧烷
- 5.0 PEG-40 氢化蓖麻油
- 2.5 棕榈酸异丙酯
- B 1.44 芳香油
- 0.05 BHT
- C 1.0 活性成分

活性成分 5%:

- A 26.0 硬脂醇
- 56.0 环戊硅氧烷, 环己硅氧烷
- 5.0 PEG-40 氢化蓖麻油
- 2.5 棕榈酸异丙酯
- B 1.44 芳香油
- 0.05 BHT
- C 5.0 活性成分

称出 A 相的组分并熔解。搅拌下将 A 相冷却到约 50°C。将 B 和 C 相的组分混匀并连续加入。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含透明滚珠体香剂 (transparent deo-roll on)，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

活性成分 1%：

A	0.40	羟乙基纤维素
	50.0	软化水
B	2.0	PEG-40 氢化蓖麻油
	0.1	红没药醇
	0.3	法尼醇
	0.5	芳香油
	7.6	软化水
	25.0	酒精
C	3.0	丙二醇
	3.0	PEG-14 聚二甲基硅氧烷
	3.0	polyquaternium-16
	0.1	尿囊素
D	1.0	活性成分

活性成分 5%：

A	0.40	羟乙基纤维素
	46.0	软化水
B	2.0	PEG-40 氢化蓖麻油
	0.1	红没药醇
	0.3	法尼醇
	0.5	芳香油

- 7.6 软化水
- 25.0 酒精
- C 3.0 丙二醇
- 3.0 PEG-14 聚二甲基硅氧烷
- 3.0 polyquaternium-16
- 0.1 尿囊素
- D 5.0 活性成分

将 A 相溶胀，溶解 B 相。随后，加入 C 相并搅拌。最后，将 B、C 和 D 相搅拌入 A 相中。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含乳剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 1.5 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
- 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 5.0 PEG-40 氢化蓖麻油
- 1.5 硬脂酸甘油酯
- 1.0 十六/十八醇
- 0.5 Eucerinum anhydricum
- 0.2 植三醇
- 1.0 棕榈酸十六酯
- 5.0 二辛醚
- 0.3 法尼醇
- B 适量 防腐剂
- 72.0 软化水
- C 适量 芳香油
- D 1.0 活性成分

活性成分 5%:

- A** **1.5** 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
 5.0 PEG-40 氢化蓖麻油
 1.5 硬脂酸甘油酯
 1.0 十六/十八醇
 0.5 Eucerinum anhydricum
 0.2 植三醇
 1.0 棕榈酸十六酯
 5.0 二辛醚
 0.3 法尼醇
- B** 适量 防腐剂
 68.0 软化水
- C** 适量 芳香油
- D** **5.0** 活性成分

将 A 和 B 相单独加热到约 80°C。将 B 相搅拌入 A 相并混匀 3 分钟。随后, 冷却混合物到 40°C 并加入 C 和 D 相。最后, 搅拌混合物并冷却到室温。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含香体系式(deo-pump)喷雾剂, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A** **5.0** PEG-40 氢化蓖麻油
 0.3 PEG-7 氢化蓖麻油
 1.0 硬脂酸甘油酯
 1.0 十六/十八醇
 5.0 环戊硅氧烷
 0.5 Eucerinum anhydricum

	0.2	植三醇
	5.0	二辛醚
	0.3	法尼醇
B	适量	防腐剂
	76.7	软化水
C	适量	芳香油
D	1.0	活性成分

活性成分 5%:

A	5.0	PEG-40 氢化蓖麻油
	0.3	PEG-7 氢化蓖麻油
	1.0	硬脂酸甘油酯
	1.0	十六/十八醇
	5.0	环戊硅氧烷
	0.5	Eucerinum anhydricum
	0.2	植三醇
	5.0	二辛醚
	0.3	法尼醇
B	适量	防腐剂
	72.7	软化水
C	适量	芳香油
D	5.0	活性成分

将 A 和 B 相单独加热到约 80°C。将 B 相混匀并搅拌入 A 和 C 相中。随后, 冷却混合物到 40°C 并加入 D 相。最后, 搅拌混合物并冷却到室温。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含香体洗剂(deo-lotion), 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

- A 1.5 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
1.5 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
2.0 PEG-40 氢化蓖麻油
2.0 硬脂酸甘油酯
2.0 十六/十八醇
2.0 鲸蜡醇
2.0 氢化椰油单、双、三甘油酯
8.0 油酸癸酯
0.5 PEG-14 聚二甲基硅氧烷
0.3 法尼醇
- B 适量 防腐剂
75.2 软化水
- C 适量 芳香油
- D 1.0 活性成分 1%:

活性成分 5%:

- A 1.5 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇
1.5 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
2.0 PEG-40 氢化蓖麻油
2.0 硬脂酸甘油酯
2.0 十六/十八醇
2.0 鲸蜡醇
2.0 氢化椰油单、双、三甘油酯
8.0 油酸癸酯
0.5 PEG-14 聚二甲基硅氧烷
0.3 法尼醇
- B 适量 防腐剂
71.2 软化水

C 适量 芳香油

D 5.0 活性成分 1%:

将 A 和 B 相单独加热到约 80°C。将 B 相混匀并搅拌入 A 相中。随后，冷却混合物到 40°C 并加入 C 和 D 相。最后，搅拌混合物并冷却到室温。

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含 O/W 型香体洗剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

活性成分 1%:

A 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇

2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚

4.0 乙基己酸十六/十八酯

2.0 十六/十八醇

2.0 氢化椰油单、双、三甘油酯

1.0 硬脂酸甘油酯

1.0 矿物油

0.5 聚二甲基硅氧烷

0.2 红没药醇

B 2.0 泛醇, 丙二醇

2.0 丙二醇

适量 防腐剂

79.8 软化水

C 1.2 辛/癸酸甘油三酯, 丙烯酸钠共聚物

D 0.2 生育酚

适量 芳香油

E 1.0 活性成分:

活性成分 5%:

A 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(6)醚,硬脂醇

- 2.0 十六/十八醇聚氧乙烯(25)醚
- 4.0 乙基己酸十六/十八酯
- 2.0 十六/十八醇
- 2.0 氢化椰油单、双、三甘油酯
- 1.0 硬脂酸甘油酯
- 1.0 矿物油
- 0.5 聚二甲基硅氧烷
- 0.2 红没药醇
- B 2.0 泛醇, 丙二醇
- 2.0 丙二醇
- 适量 防腐剂
- 75.8 软化水
- C 1.2 辛/癸酸甘油三酯, 丙烯酸钠共聚物
- D 0.2 生育酚
- 适量 芳香油
- E 5.0 活性成分:

将 A 和 B 相单独加热到约 80°C。随后将 C 相搅拌入 A 和 B 相中并混匀。最后, 混合物冷却到 40°C 并加入 D 和 E 相。

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含透明香波, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

成分 (%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5
月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠	13.00	15.00	10.50	12.50	10.00
椰油酰胺基丙基甜菜碱	7.50	7.00	5.00	5.50	10.00
PEG-7 椰油酸甘油酯	2.00	2.50	3.50	5.00	2.30
芳香油	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
活性成分	1.0	5.0	0.1	0.5	10.0
D-泛醇 USP	1.00	1.50	1.80	1.70	1.40
防腐剂	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10

柠檬酸	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
luviquat ultra care	1.50	1.00	1.50	1.20	1.10
氯化钠	1.50	1.40	1.40	1.30	1.50
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含香波，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5
月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠	35.00	40.00	30.00	45.00	27.00
癸基葡糖苷	5.00	5.50	4.90	3.50	7.00
椰油酰胺基丙基甜菜碱	10.00	5.00	12.50	7.50	15.00
芳香油	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
活性成分	1.0	5.0	0.1	0.5	10.0
d-泛醇 usp	0.50	1.00	0.80	1.50	0.50
防腐剂	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
柠檬酸	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
月桂基聚氧乙烯(3)醚	0.50	2.00	0.50	0.50	2.00
氯化钠	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含透明调节香波，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5
N-椰油酰胺基乙基-N-羧基乙基氨基二乙酸二钠	10.00	15.00	20.00	12.00	17.00
癸基葡糖苷	5.00	6.00	7.00	8.00	4.00
椰油酰胺基丙基甜菜碱	15.00	12.00	10.00	18.00	20.00
Luviquat FC 550	0.30	0.20	0.20	0.20	0.30

芳香油	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
活性成分	20.0	5.0	1.0	0.5	10.0
cremophor PS 20	5.00	1.00	1.00	7.00	5.00
防腐剂	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
月桂基聚氧乙烯(3)醚	2.00	1.00	0.50	2.00	2.00
柠檬酸	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
PEG-12 二硬脂酸酯	3.00	2.00	2.00	3.00	2.50
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含泡沫 O/W 乳剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1		实例 2	
	重量%	体积%	重量%	体积%
硬脂酸	5.00		1.00	
鲸蜡醇	5.50			
十六/十八醇			2.00	
PEG-40 硬脂酸酯	8.50			
PEG-20 硬脂酸酯			1.00	
辛/癸酸甘油三酯	4.00		2.00	
C12-15 烷基苯甲酸酯	10.00		15.00	
环状聚二甲基硅氧烷	4.00			
聚二甲基硅氧烷			0.50	
活性成分	5.0		10.0	
异硬脂酸乙基己酯			5.00	
肉豆蔻酸肉豆蔻酯			2.00	
纯地蜡	1.50			
甘油			3.00	
羟丙基淀粉磷酸酯	1.00		3.50	
BHT			0.02	
芳香油，防腐剂	适量		适量	

着色剂	适量		适量	
氢氧化钾	适量		适量	
软化水	到 100		到 100	
	pH 调节 至 6.5-7.5		pH 调节 至 5.0-6.0	
乳剂 1		70		
乳剂 2				35
氮		30		
丙烷/丁烷				65

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含具有珍珠光亮的调节香波，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3
polyquaternium-10	0.50	0.50	0.40
月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠	9.00	8.50	8.90
椰油酰胺基丙基甜菜碱	2.50	2.60	3.00
Uvinul® MS 40	1.50	0.50	1.00
活性成分	1.0	5.0	0.5
珍珠光亮溶液	2.00	2.50	
防腐剂，芳香油，增稠剂	适量	适量	适量
软化水	到 100	到 100	到 100
pH 调节至 6.0			

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含透明调节香波，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3
polyquaternium-10	0.50	0.50	0.50
月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠	9.00	8.50	9.50

活性成分	5.0	0.1	3.0
Uvinul M® 40	1.00	1.50	0.50
	0.20	0.20	0.80
防腐剂, 芳香油, 增稠剂	适量	适量	适量
软化水	到 100	到 100	到 100
pH 调节至 6.0			

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含具有体积效应的透明调节香波, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3
月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠	10.00	10.50	11.00
Uvinul® MC 80	2.00	1.50	2.30
活性成分	10.0	0.1	0.5
椰油酰胺基丙基甜菜碱	2.50	2.60	2.20
防腐剂, 芳香油, 增稠剂	适量	适量	适量
软化水	到 100	到 100	到 100
pH 调节至 6.0			

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含凝胶乳剂, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4
丙烯酸酯/丙烯酸 C10-30 烷基酯交联聚合物	0.40	0.35	0.40	0.35
卡波姆	0.20	0.22	0.20	0.22
黄原胶	0.10	0.13	0.10	0.13
十六/十八醇	3.00	2.50	3.00	2.50
C12-15 烷基苯甲酸酯	4.00	4.50	4.00	4.50
辛/癸酸甘油三酯	3.00	3.50	3.00	3.50

Uvinul® A Plus™	2.00	1.50	0.75	1.00
UvaSorb® k2A 乙基己基二-异戊基 苯并噁唑基苯基蜜胺		3.00		
Uvinul® MC 80	3.00		1.00	
二-乙基己基氧基苯酚甲氧基苯基 三嗪		1.50		2.00
丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷			2.00	
苯基联苯并咪唑四磺酸二钠	2.50		0.50	2.00
Uvinul® T 150	4.00		3.00	4.00
2-氰基-3,3-二苯基丙烯酸-2-乙基己 酯		4.00		
二乙基己基丁酰胺基三嗪酮	1.00			2.00
苯基苯并咪唑磺酸	0.50		3.00	
亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基 苯酚	2.00		0.50	1.50
水杨酸乙基己酯			3.00	
甲酚曲唑三硅氧烷			0.50	
对苯二亚甲基二樟脑磺酸		1.50		1.00
2,6-萘二甲酸二乙基己酯	3,50	4,00	7,00	9,00
超细二氧化钛	1.00		3.00	
超细氧化锌				0.25
活性成分	0.1	0.5	1.0	0.02
环状聚二甲基硅氧烷	5.00	5.50	5.00	5.50
聚二甲基硅氧烷	1.00	0.60	1.00	0.60
甘油	1.00	1.20	1.00	1.20
氢氧化钠	适量	适量	适量	适量
防腐剂	0.30	0.23	0.30	0.23
芳香油	0.20		0.20	
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100
pH 调节至 6.0				

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含水分散体(hydrodispersion)，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5
十六/十八醇聚氧乙烯 (20)醚	1.00			0.50	
鲸蜡醇			1.00		
卡波姆钠		0.20		0.30	
丙烯酸酯/丙烯酸 c10-30 烷基酯交联聚合物	0.50		0.40	0.10	0.50
黄原胶		0.30	0.15		
活性成分	5.0	0.5	3.0	0.1	10.0
Uvinul® A Plus™	2.00	1.50	0.75	1.00	2.10
UvaSorb® k2A 乙基己 基双-异戊基苯并噁唑 基苯基蜜胺		3.50			
甲氧基肉桂酸乙基己酯 Uvinul® MC 80					5.00
二-乙基己基氧基苯酚甲 氧基苯基三嗪		1.50		2.00	2.50
丁基甲氧基二苯甲酰基 甲烷			2.00		2.00
苯基联苯丙咪唑四磺酸 二钠	2.50		0.50	2.00	
乙基己基三嗪酮 Uvinul® T 150	4.00		3.00	4.00	
2-氰基-3,3-二苯基丙烯 酸-2-乙基己酯		4.00			
二乙基己基丁酰胺基三 嗪酮	1.00			2.00	1.00

苯基苯并咪唑磺酸	0.50		3.00		
亚甲基双-苯并三唑基四 甲基丁基苯酚	2.00		0.50	1.50	2.50
水杨酸乙基己酯			3.00		
甲酚曲唑三硅氧烷			0.50		
对苯二亚甲基二樟脑磺 酸		1.50		1.00	1.00
2,6-萘二甲酸二乙基己 酯			7.00		9.00
超细二氧化钛	1.00		3.00		3.50
超细氧化锌				0.25	
C12-15 烷基苯甲酸酯	2.00	2.50			
二辛醚		4.00			
二辛酸/二癸酸丁二醇酯	4.00		2.00	6.00	
碳酸二辛酯		2.00	6.00		
聚二甲基硅氧烷		0.50	1.00		
苯基聚三甲基硅氧烷	2.00		0.50		
牛油树果 (牛油树脂)		2.00		5.00	
VP/十六碳烯共聚物	0.50			0.50	1.00
蜂花烷基 PVP	0.50		1.00		
乙基己基甘油			1.00		0.80
甘油	3.00	7.50		7.50	8.50
大豆油			1.50		1.00
维生素 E 乙酸酯	0.50		0.25		1.00
葡糖基芸香苷	0.60			0.25	
生物糖胶-1		2.50	0.50		2.00
DMDM 乙内酰脲		0.60	0.45	0.25	
丁基氨基甲酸碘代丙炔 酯	0.20				
对羟基苯甲酸甲酯	0.50		0.25	0.15	
苯氧基乙醇	0.50	0.40		1.00	

乙醇	3.00	2.00	1.50		7.00
芳香油	0.20		0.05	0.40	
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含 stick，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4
辛/癸酸甘油三酯	12.00	10.00	6.00	
辛基十二烷醇	7.00	14.00	8.00	3.00
二辛酸/癸酸丁二醇酯				12.00
季戊四醇四异硬脂酸酯	10.00	6.00	8.00	7.00
聚甘油-3 二异硬脂酸酯	2.50			
双-二甘油多酰基己二酸酯 -2	9.00	8.00	10.00	8.00
十六/十八醇	8.00	11.00	9.00	7.00
肉豆蔻酸肉豆蔻酯	3.50	3.00	4.00	3.00
蜂蜡	5.00	5.00	6.00	6.00
巴西蜡棕蜡	1.50	2.00	2.00	1.50
白(蜂)蜡	0.50	0.50	0.50	0.40
C16-40 烷基硬脂酸酯		1.50	1.50	1.50
活性成分	0.5	3.0	1.0	5.0
Uvinul® A Plus™	2.00	1.50	0.75	9.00
UvaSorb® k2A 乙基己基双- 异戊基苯并噁唑基苯基蜜 胺		2.00		4.00
甲氧基肉桂酸乙基己酯 Uvinul® MC 80		3.00		
二-乙基己基氧基苯酚甲氧 基苯基三嗪		1.50		2.00
丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷			2.00	

苯基联苯丙咪唑四磺酸二钠	2.50		0.50	2.00
乙基己基三嗪酮 Uvinul® T 150	4.00		3.00	4.00
2-氰基-3,3-二苯基丙烯酸-2- 乙基己酯		4.00		
二乙基己基丁酰胺基三嗪酮	1.00			2.00
苯基苯并咪唑磺酸	0.50		3.00	
亚甲基双-苯并三唑基四甲 基丁基苯酚	2.00		0.50	1.50
水杨酸乙基己酯			3.00	
甲酚曲唑三硅氧烷			0.50	
对苯二亚甲基二樟脑磺酸		1.50		1.00
2,6-萘二甲酸二乙基己酯			7.00	
超细二氧化钛	1.00		3.00	
超细氧化锌				0.25
维生素 E 乙酸酯	0.50	1.00		
棕榈酸抗坏血酸酯	0.05		0.05	
霍霍巴油	2.00	1.00		1.00
芳香油, BHT	0.10	0.25		0.35
蓖麻油	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中, 化妆品组合物包含 PIT 乳剂, 其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%):

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5	实例 6	实例 7	实例 8
单硬脂酸甘油酯 SE	0.50	2.00	3.00	5.00		0.50	4.00	
异硬脂酸甘油酯					3.50	4.00	2.00	
异十六烷基聚氧 乙烯(20)醚		0.50			2.00			
十六/十八醇聚氧		5.00		1.00			3.50	5.00

乙烯(12)醚								
十六/十八醇聚氧 乙烯(20)醚		5.00		1.00				3.50
PEG-100 硬脂酸 酯				2.80		2.30	3.30	
鲸蜡醇	5.20		1.20	1.00	1.30		0.50	0.30
棕榈酸十六酯	2.50	1.20		1.50		0.50		1.50
十六烷基含聚氧 乙烯或聚氧丙烯 侧链的聚二甲基 硅氧烷				0.50		1.00		
聚甘油基-2-油酸 酯				0.75	0.30			
活性成分	0.1	5.0	0.01	0.5	3.0	0.25	10.0	3.0
Uvinul® A Plus™	2.00	1.50	0.75	1.00	2.10	4.50	5.00	2.10
UvaSorb® k2A 乙基己基双-异戊 基苯并噁唑基苯 基蜜胺			4.00				1.50	
甲氧基肉桂酸乙 基己酯 Uvinul® MC 80					5.00	6.00	8.00	5.00
二-乙基己基氧基 苯酚甲氧基苯基 三嗪		1.50		2.00	2.50		2.50	2.50
丁基甲氧基二苯 甲酰基甲烷			2.00		2.00	1.50		2.00
苯基联苯丙咪唑 四磺酸二钠	2.50		0.50	2.00		0.30		
乙基己基三嗪酮	4.00		3.00	4.00		2.00		

Uvinul® T 150								
2-氰基-3,3-二苯基丙烯酸-2-乙基己酯		4.00					7.50	
二乙基己基丁酰胺基三嗪酮	1.00			2.00	1.00		1.00	1.00
苯基苯并咪唑磺酸	0.50		3.00					
亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基苯酚	2.00		0.50	1.50	2.50			2.50
水杨酸乙基己酯			3.00				5.00	
甲酚曲唑三硅氧烷			0.50			1.00		
对苯二亚甲基二樟脑磺酸		1.50		1.00	1.00		0.50	1.00
2,6-萘二甲酸二乙基己酯			7.00		10.00	7.50		8.00
超细二氧化钛	1.00		3.00		3.50		1.50	3.50
超细氧化锌				0.25		2.00		
C12-15 烷基苯甲酸酯	3.50			6.35				0.10
椰油脂酸甘油酯		3.00		3.00				1.00
二辛醚	4.50							
碳酸二辛酯		4.30		3.00				7.00
己二酸二丁酯				0.50				0.30
苯基聚三甲基硅氧烷	2.00			3.50		2.00		
环状聚二甲基硅氧烷		3.00						
C1-5 烷基半乳甘		0.50			2.00			

露聚糖								
氢化椰油单、双、 三甘油酯					3.00	4.00		
山萘氧基聚二甲 基硅氧烷						1.50	2.00	
VP/十六碳烯共聚 物				1.00	1.20			
甘油	4.00	6.00	5.00		8.00	10.00		
维生素 E 乙酸酯	0.20	0.30	0.40		0.30			
牛油树果 (牛油 树脂)		2.00		3.60		2.00		
丁基氨基甲酸碘 代丙炔酯	0.12				0.20			
生物糖胶-1				0.10				
DMDM 乙内酰脲	0.10				0.12		0.13	
对羟基苯甲酸甲 酯		0.50	0.30		0.35			
苯氧基乙醇	0.50	0.40		1.00				
乙基己基甘油		0.30			1.00		0.35	
乙醇	2.00		2.00			5.00		
芳香油	0.20		0.20		0.24	0.16	0.10	0.10
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100	到 100	ad100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含凝胶乳剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4
丙烯酸酯/丙烯酸 C10-30 烷基酯交 联聚合物	0.40	0.35	0.40	0.35
卡波姆	0.20	0.22	0.20	0.22
Luvigel® EM	1.50	2.50	2.80	3.50

黄原胶	0.10	0.13	0.10	0.13
十六/十八醇	3.00	2.50	3.00	2.50
苯甲酸 C12-15 烷基酯	4.00	4.50	4.00	4.50
辛/癸酸甘油三酯	3.00	3.50	3.00	3.50
超细二氧化钛	1.00		1.50	
超细氧化锌		2.00		0.25
活性成分	0.5	10.0	3.0	5.0
二羟基丙酮			3.00	5.00
环状聚二甲基硅氧烷	5.00	5.50	5.00	5.50
聚二甲基硅氧烷	1.00	0.60	1.00	0.60
甘油	1.00	1.20	1.00	1.20
氢氧化钠	适量	适量	适量	适量
防腐剂	0.30	0.23	0.30	0.23
芳香油	0.20		0.20	
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100
pH 调节至 6.0				

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含晒后水分散体，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5
十六/十八醇聚氧乙烯 (20)醚	1.00			0.50	
鲸蜡醇			1.00		
Luvigel® EM		2.00		2.50	2.00
丙烯酸酯/丙烯酸 c10-30 烷基酯交联聚合物	0.50	0.30	0.40	0.10	0.50
黄原胶		0.30	0.15		
活性成分	0.1	5.0	0.5	3.0	1.0
C12-15 烷基苯甲酸酯	2.00	2.50			
二辛醚		4.00			

二辛酸/二癸酸丁二醇酯	4.00		2.00	6.00	
碳酸二辛酯		2.00	6.00		
聚二甲基硅氧烷		0.50	1.00		
苯基聚三甲基硅氧烷	2.00		0.50		
蜂花烷基 PVP	0.50		1.00		
乙基己基甘油			1.00		0.80
甘油	3.00	7.50		7.50	8.50
大豆油			1.50		1.00
维生素 E 乙酸酯	0.50		0.25		1.00
葡糖基芸香苷	0.60			0.25	
乙醇	15.00	10.00	8.00	12.00	9.00
芳香油	0.20		0.05	0.40	
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含 W/O 乳剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5
十六烷基聚二甲基硅氧烷		2.50		4.00	
聚甘油-2 二聚羟基硬脂酸酯	5.00				4.50
PEG-30 二聚羟基硬脂酸酯			5.00		
活性成分	5.0	10.0	0.1	0.5	1.0
Uvinul® A Plus™	2.00	1.50	0.75	1.00	2.10
超细二氧化钛	1.00		3.00		3.50
超细氧化锌		0.90		0.25	
矿物油		12.00	10.00		8.00
C12-15 烷基苯甲酸酯				9.00	
二辛醚	10.00				7.00

二辛酸/二癸酸丁二醇酯			2.00	8.00	4.00
碳酸二辛酯	5.00		6.00		
聚二甲基硅氧烷		4.00	1.00	5.00	
环状聚二甲基硅氧烷	2.00	25.00			2.00
牛油树果 (牛油树脂)			3.00		
矿脂		4.50			
VP/十六碳烯共聚物	0.50			0.50	1.00
乙基己基甘油		0.30	1.00		0.50
甘油	3.00	7.50		7.50	8.50
大豆油		1.00	1.50		1.00
硫酸镁	1.00	0.50		0.50	
氯化镁			1.00		0.70
维生素 E 乙酸酯	0.50		0.25		1.00
棕榈酸抗坏血酸酯	0.50			2.00	
生物糖胶-1				3.50	7.00
DMDM 乙内酰脲		0.60	0.40	0.20	
对羟基苯甲酸甲酯	0.50		0.25	0.15	
苯氧基乙醇	0.50	0.40		1.00	
乙醇	3.00		1.50		5.00
芳香油	0.20		0.40	0.35	
软化水	到 100	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含 pickering 乳剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5
矿物油			16.00	16.00	
辛基十二烷醇	9.00	9.00	5.00		
辛/癸酸甘油三酯	9.00	9.00	6.00		
C12-15 烷基苯甲酸酯				5.00	8.00
二辛酸/癸酸丁二醇酯					8.00

二辛醚	9.00			4.00	
碳酸二辛酯		9.00			
羟廿八醇羟基硬脂酸酯	2.00	2.00	2.20	2.50	1.50
二硬脂基二甲基胺锂皂 石	1.00	0.75		0.50	0.25
微晶蜡 + 液体石蜡		0.35			5.00
羟丙基甲基纤维素			0.10		0.05
聚二甲基硅氧烷					3.00
活性成分	1.0	0.5	0.1	3.0	5.0
二氧化钛 + 珉土+ 西 甲硅油 + 水		3.00			
二氧化钛 + 三甲氧基 辛酰基硅烷		2.00	4.00	2.00	4.00
二甲基甲硅烷基化硅石	2.50			6.00	2.50
一氮化硼			1.00		
淀粉/偏磷酸钠聚合物	2.00				
木薯淀粉		0.50			
氯化钠	5.00	7.00	8.50	3.00	4.50
甘油				1.00	
维生素 E 乙酸酯	5.00	10.00	3.00	6.00	10.00
抗坏血酸棕榈酸酯	1.00	1.00		1.00	
对羟基苯甲酸甲酯		0.60			0.20
对羟苯甲酸丙酯					0.20
苯氧基乙醇			0.20		
己脒定二(羟乙基磺酸) 盐			0.40	0.50	0.40
二偶氮利定脲					0.08
乙醇			0.23	0.20	
芳香油	5.00		3.00	4.00	
软化水	0.20		0.30	0.10	

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含 stick，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4
辛/癸酸甘油三酯	12.00	10.00	6.00	
辛基十二烷醇	7.00	14.00	8.00	3.00
二辛酸/癸酸丁二醇酯				12.00
季戊四醇四异硬脂酸酯	10.00	6.00	8.00	7.00
聚甘油-3 二异硬脂酸酯	2.50			
双-二甘油多酰基己二酸酯 -2	9.00	8.00	10.00	8.00
十六/十八醇	8.00	11.00	9.00	7.00
肉豆蔻酸肉豆蔻酯	3.50	3.00	4.00	3.00
蜂蜡	5.00	5.00	6.00	6.00
巴西蜡棕蜡	1.50	2.00	2.00	1.50
白(蜂)蜡	0.50	0.50	0.50	0.40
C16-40 烷基硬脂酸酯		1.50	1.50	1.50
活性成分	10.0	1.0	3.0	0.1
Uvinul® A Plus TM	2.00	1.50	0.75	9.00
超细二氧化钛	1.00		3.00	
超细氧化锌		1.00		0.25
维生素 E 乙酸酯	0.50	1.00		
棕榈酸抗坏血酸酯	0.05		0.05	
霍霍巴油	2.00	1.00		1.00
芳香油, BHT	0.10	0.25		0.35
蓖麻油	到 100	到 100	到 100	到 100

在另一优选实施方案中，化妆品组合物包含油凝胶剂，其可以含有例如根据国际化妆品成分命名法 INCI 的如下成分(%)：

成分(%)	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4
辛/癸酸甘油三酯	12.00	10.00	6.00	
辛基十二烷醇	7.00	14.00	8.00	3.00
二辛酸/癸酸丁二醇酯				12.00
季戊四醇四异硬脂酸酯	10.00	6.00	8.00	7.00
聚甘油-3 二异硬脂酸酯	2.50			
双-二甘油多酰基己二酸酯 -2	9.00	8.00	10.00	8.00
肉豆蔻酸肉豆蔻酯	3.50	3.00	4.00	3.00
quaternium-18 膨润土	5.00	5.00	6.00	6.00
碳酸丙烯酯	15.00	20.00	18.00	19.50
活性成分	1.0	0.5	3.0	5.0
维生素 E 乙酸酯	0.50	1.00		
棕榈酸抗坏血酸酯	0.05		0.05	
霍霍巴油	2.00	1.00		1.00
芳香油, BHT	0.10	0.25		0.35
蓖麻油	到 100	到 100	到 100	到 100

另一方面, 本发明提供了生产用于保护皮肤对抗病原微生物的组合物或药盒的方法, 其包括步骤: 将根据本发明方面(i)的微生物, 即能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长的微生物, 或如上述微生物的突变体、衍生物或无活性形式和根据本发明方面(ii)的微生物, 即能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长的微生物, 或如上述微生物的突变体、衍生物或无活性形式与化妆品和/或药学上可接受的载体或赋形剂配制。

此外, 本发明涉及上述方面(i)和(ii)的微生物或如上述其突变体、衍生物或无活性形式的用途, 用于制备包含方面(i)的微生物和方面(ii)的微生物的组合, 例如, 组合物或药盒。优选地, 此类组合物是药物组合物或化妆品组合物。

本发明还涉及(i)能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的微生物和(ii) 能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的组合用于制备保护皮肤抵抗病原细菌的化妆品组合物或药物组合物的用途。

此外, 本发明也涉及(i)能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长的微生物和(ii) 能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的组合用于制备药物组合物的用途, 所述药物组合物用于预防或治疗皮炎, 优选特应性皮炎、牛皮癣、毒葛皮炎、疱疹性湿疹、脓癣或疥疮。

本发明也涉及(i)能够刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的微生物和(ii) 能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的组合用于制备治疗皮肤微生物的不利的病原比例的药物组合物的用途。术语“皮肤微生物的不利的病原比例”指暂居病原微生物菌群微生物和健康正常固有皮肤微生物菌群微生物之间的比例为至少 51 到至多 49、优选至少 60 到至多 40、至少 70 到至多 30、至少 75 到至多 25、至少 80 到至多 20、至少 85 到至多 15、至少 90 到至多 10、至少 95 到至多 5、最优选至少 98 到至多 2、甚至更优选至少 99 到至多 1、至少 99.9 到至多 0.1、至少 99.99 到至多 0.01、最优选至少 99.999 到至多 0.001。在优选实施方案中, 暂居病原微生物菌群是金黄色葡萄球菌;在进一步优选的实施方案中, 健康正常固有皮肤微生物菌群的微生物是表皮葡萄球菌。更优选地, 金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌之间的比例是至少 99 到至多 1 的比例。在优选实施方案中, “皮肤微生物的不利的病原比例”是如在皮肤病、优选所有形式的细菌性皮炎、更优选在特应性皮炎、脓疱病、毛囊炎或疖病中发现的皮肤微生物的比例。

皮肤微生物的不利的病原比例的治疗包括皮肤微生物菌群的重新平

衡。术语“皮肤微生物菌群的重新平衡”指如上文定义的皮肤微生物的不利的病原比例返回到皮肤微生物的健康比例。术语“皮肤微生物的健康比例”指健康正常固有皮肤微生物菌群的微生物和暂居病原微生物菌群的微生物之间的比例为至少 51 到至多 49、优选至少 60 到至多 40、至少 70 到至多 30、至少 75 到至多 25、至少 80 到至多 20、至少 85 到至多 15、至少 90 到至多 10、至少 95 到至多 5、最优选至少 98 到至多 2、最优选至少 99 到至多 1。在优选实施方案中，暂居病原微生物菌群的微生物是金黄色葡萄球菌；在进一步优选的实施方案中，健康正常固有皮肤微生物菌群的微生物是表皮葡萄球菌。更优选地，皮肤微生物菌群的重新平衡导致表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌之间的比例是至少 99 到至多 1 的比例。

如不利的病原比例的治疗和对应的皮肤微生物菌群的重新平衡的上下文中所用的术语“比例”涉及在相同的皮肤面积上微生物按照细胞数目的比例。优选地，该术语涉及人皮肤相同面积上微生物的比例。从皮肤分离微生物和测定特定区域中它们的数目的手段和方法在上文描述并且是本领域技术人员已知的。

在优选实施方案中，皮肤微生物菌群的重新平衡在短时间尺度上发生。术语“短时间尺度”指应用或施用根据本发明的药物组合物后长达 4 天，优选长达 3 天，长达 48 小时，长达 36 小时，长达 24 小时，更优选长达 12 小时，甚至更优选长达 8h，最优选长达 6 小时的时间期限。

在进一步优选的实施方案中，保护皮肤对抗病原细菌或预防或治疗皮炎，例如，特应性皮炎、牛皮癣、毒葛皮炎、疱疹性湿疹、脓癣或疥疮包括皮肤微生物菌群的重新平衡。

如制备药物组合物或化妆品组合物用途的上下文中所用的术语“组合”指(i)刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长的微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物和(ii) 能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物的任

一比例为技术人员已知的任一合适的浓度,例如每毫升 10^2 – 10^{13} 个细胞浓度下至多 0.001%的(i)和至少 99.999%的(ii),到至少 99.999%的(i)和至多 0.001%的(ii)。优选地,该术语指技术人员已知的任一合适的浓度,例如每毫升 10^2 – 10^{13} 个细胞浓度下至多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii),至多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii),至少 99%的(i)和至多 1%的(ii),至少 98%的(i)和至多 2%的(ii),至少 95%的(i)和至多 5%的(ii),至少 90%的(i)和至多 10%的(ii),至少 80%的(i)和至多 20%的(ii),至少 75%的(i)和至多 25%的(ii),至少 70%的(i)和至多 30%的(ii),至多 30%的(i)和至少 70%的(ii),至多 25%的(i)和至少 75%的(ii),至多 20%的(i)和至少 80%的(ii),至多 10%的(i)和至少 90%的(ii),至多 5%的(i)和至少 95%的(ii),至多 2%的(i)和至少 98%的(ii),至少 99%的(i)和至多 1%的(ii),至多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii),至多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii)的比例。更优选地,该术语指技术人员已知的任一合适的浓度,例如每毫升 10^2 – 10^{13} 个细胞浓度下至少 65%的(i)和至多 35%的(ii),至少 60%的(i)和至多 40%的(ii),至少 59%的(i)和至多 41%的(ii),至少 58%的(i)和至多 42%的(ii),至少 57%的(i)和至多 43%的(ii),至少 56%的(i)和至多 44%的(ii),至少 55%的(i)和至多 45%的(ii),至少 54%的(i)和至多 46%的(ii),至少 53%的(i)和至多 47%的(ii),至少 52%的(i)和至多 48%的(ii),至少 51%的(i)和至多 49%的(ii),至多 49%的(i)和至少 51%的(ii),至多 48%的(i)和至少 52%的(ii),至多 47%的(i)和至少 53%的(ii),至多 46%的(i)和至少 54%的(ii),至多 45%的(i)和至少 55%的(ii),至多 44%的(i)和至少 56%的(ii),至多 43%的(i)和至少 57%的(ii),至多 42%的(i)和至少 58%的(ii),至多 41%的(i)和至少 59%的(ii),至多 40%的(i)和至少 60%的(ii),至多 35%的(i)和至少 65%的(ii)的比例。最优选地,该术语指技术人员已知的任一合适的浓度,例如每毫升 10^2 – 10^{13} 个细胞浓度下至少 50%的(i)和至多 50%的(ii)或至多 50%的(i)和至少 50%的(ii)的比例。优选地,术语“比例”仅仅指组合物中(i)和(ii)之间的比例。从而,术语“比例”不排除组合物中存在任何合适量或浓度的其他组分,如本领域技术人员已知。术语“化妆品组合物”和“药物组合物”指如上文所述的任何化妆品组合物或药物组合物。

在进一步优选的实施方案中, 根据本发明方面(i)和(ii)的微生物的“组合”指微生物的组合, 其中根据本发明的方面(i)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(ii)的微生物的生长, 并且根据本发明的方面(ii)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(i)的微生物的生长。术语“负面影响”指当与根据本发明的方面(ii)的微生物组合使用时, 不会发现根据本发明的方面(i)的微生物的生长抑制并且当与根据本发明的方面(i)的微生物组合使用时, 不会发现根据本发明的方面(ii)的微生物的生长抑制。

另一方面, 本发明涉及(i)能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物生长的微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物或(ii) 能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物生长的微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物在纺织品或纺织品基质背景中的用途。

优选地, 本发明涉及(i)和(ii)的组合在纺织品或纺织品基质背景中的用途, 其中(i)为: 能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长的微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物, (ii) 为: 能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物。

在纺织品或纺织品基质背景中的术语“组合”指本领域技术人员已知的任何合适的浓度, 例如, 每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度下(i)能够刺激固有皮肤微生物菌群微生物的生长并且不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长的微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物和(ii) 能够抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物或如上述微生物的突变体、衍生物、无活性形式、提取物、级分或者滤过物的任一比例, 该

比例在最高 0.001 % (i)和至少 99.999% 的(ii), 和至少 99.999% 的(i)和最多 0.001 % 的(ii)之间。优选地, 该术语指技术人员已知的任何合适的浓度, 例如, 每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度下的如下比例: 最多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii), 最多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii),至少 99%的(i)和最多 1%的(ii),至少 98%的(i)和最多 2%的(ii),至少 95%的(i)和最多 5%的(ii),至少 90%的(i)和最多 10%的(ii),至少 80%的(i)和最多 20%的(ii),至少 75%的(i)和最多 25%的(ii),至少 70%的(i)和最多 30%的(ii),最多 30%的(i)和至少 70%的(ii),最多 25%的(i)和至少 75%的(ii),最多 20%的(i)和至少 80%的(ii),最多 10%的(i)和至少 90%的(ii),最多 5%的(i)和至少 95%的(ii),最多 2%的(i)和至少 98%的(ii),至少 99%的(i)和最多 1%的(ii),最多 0.1%的(i)和至少 99.9%的(ii),最多 0.01%的(i)和至少 99.99%的(ii)。更优选地, 该术语指本领域技术人员已知的任何合适的浓度, 例如, 每 ml 10^2 – 10^{13} 个细胞的浓度下的如下比例: 至少 65%的(i)和最多 35%的(ii),至少 60%的(i)和最多 40%的(ii),至少 59%的(i)和最多 41%的(ii),至少 58%的(i)和最多 42%的(ii),至少 57%的(i)和最多 43%的(ii),至少 56%的(i)和最多 44%的(ii),至少 55%的(i)和最多 45%的(ii),至少 54%的(i)和最多 46%的(ii),至少 53%的(i)和最多 47%的(ii),至少 52%的(i)和最多 48%的(ii),至少 51%的(i)和最多 49%的(ii),最多 49%的(i)和至少 51%的(ii),最多 48%的(i)和至少 52%的(ii),最多 47%的(i)和至少 53%的(ii),最多 46%的(i)和至少 54%的(ii),最多 45%的(i)和至少 55%的(ii),最多 44%的(i)和至少 56%的(ii),最多 43%的(i)和至少 57%的(ii),最多 42%的(i)和至少 58%的(ii),最多 41%的(i)和至少 59%的(ii),最多 40%的(i)和至少 60%的(ii),最多 35%的(i)和至少 65%的(ii)。最优选地, 该术语指技术人员已知的任何合适的浓度的如下比例: 至少 50%的(i)和最多 50%的(ii)或最多 50%的(i)和至少 50%的(ii)。优选地, 术语“比例”仅仅指纺织品或纺织品基质中(i)和(ii)之间的比, 从而, 如本领域技术人员已知, 术语“比例”不排除纺织品或纺织品基质中存在任何合适量或浓度的其他组分。

在进一步优选的实施方案中, 根据本发明的方面(i)和(ii)的微生物的

“组合”指微生物的组合，其中根据本发明的方面(i)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(ii)的微生物的生长，并且根据本发明的方面(ii)的微生物不会负面地影响根据本发明的方面(i)的微生物的生长。术语“负面影响”指当与根据本发明的方面(ii)的微生物组合使用时，不会发现根据本发明的方面(i)的微生物的生长抑制并且当与根据本发明的方面(i)的微生物组合使用时，不会发现根据本发明的方面(ii)的微生物的生长抑制。

优选地，本发明涉及如本文上述方面(i)或(ii)的微生物或者方面(i)和(ii)的微生物的组合或者如本文上述的其衍生物、突变体或无活性形式用于调节或者浸渍纺织品或纺织品基质的用途。更优选地，如上述本发明的微生物或其衍生物、突变体或无活性形式或所述微生物、它们的衍生物、突变体或无活性形式的组合可以以本领域技术人员已知的任何合适的方法或如下文示例的方法应用于的纺织品或纺织品基质之中或之上。因此，本发明也涉及在纺织品或纺织品基质范围中的如上文所述的任一种用途、组合物或方法。

因此，本发明涉及生产纺织品或纺织品基质的方法，所述纺织品或纺织品基质用于刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和/或用于抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群的微生物的生长。优选地，所述纺织品或纺织品基质可以包含如上述的化妆品上或药学上可接受的载体或赋形剂或者包含一种或多种如上文所述的化妆品或药物组合物。

如本发明中所用的术语“用于刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和/或用于抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群的微生物的生长”涉及纺织品组合物，其包含至少一种如上文所述的本发明方面(i)或(ii)的微生物、或其突变体、衍生物或无活性形式，或如上文所述的本发明方面(i)和(ii)的微生物或其突变体、衍生物或无活性形式的组合。它可以任选包含至少一种其他成分，所述成

分适于刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长或者适于抑制暂居病原皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长(也见 Ullmann, Vol. A 26 S. 227 ff, 1995,将其引入本文作为参考)。

根据本发明, 纺织品和纺织品基质是纺织品纤维、半成品纤维和成品纤维和从其产生的成品, 其除了用于服装工业的纺织品外, 也包括例如地毯和其他家用织物和用于技术目的的纺织品结构。这些结构也包括不成形结构, 如絮凝物、线性结构, 如细线、纤维、线纱、亚麻布、灯芯绒、绳、合股线和实心结构, 如毛毯、机织织物、针织品、针织物、无纺布和填絮。纺织品可以由例如, 天然来源的材料, 例如, 原棉、羊毛或者亚麻制造, 或者为合成的, 例如, 聚酰胺、聚酯、改良的聚酯、聚酯掺和的织品、聚酰胺掺和的织品、聚丙烯腈、三乙酸酯、乙酸酯、聚碳酸酯、聚丙烯、聚氯乙烯、聚酯微纤维或者玻璃纤维织品。

在本发明的一个实施方案中, 可以用技术人员已知的后处理纺织品的任何机器或设备, 如标准机器, 如轧染机进行生产纺织品和纺织品基质的方法, 所述纺织品和纺织品基质用于刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和/或用于抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群的微生物的生长。优选地, 所述轧染机是具有例如垂直进料口的轧染机, 其含有例如作为基本元件的压在一起的两个辊子, 纺织品通过所述辊子引导。在辊子上, 可以装入水性制剂, 其使得纺织品湿润。通常, 压力施加(quetches)于纺织品并且确保恒定施加。在另一优选实施方案中, 在轧染机中, 纺织品例如首先通过浸渍浴引导, 随后向上通过例如轧染机中压在一起的两个辊子, 下面是垂直纺织品进料口。用于后处理纺织品的机器或装置, 尤其轧染机描述于例如 Hans-Karl Rouette, "Handbuch der Textilveredlung", Deutscher Fachverlag 2003, p. 618 to 620,将其引入本文作为参考。

在本发明的另一实施方案中, 根据本领域技术人员已知的任何合适的抽空方法, 如喷雾、浸轧、单面给液辊或印刷进行产生纺织品和纺织品基

质的方法,所述纺织品和纺织品基质用于刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和/或用于抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群的微生物的生长。优选地,根据抽空方法用液体吸收(例如,1到50%,优选20到40%范围内)进行生产纺织品和纺织品基质的方法,所述纺织品和纺织品基质用于抑制根据本发明的腋窝细菌释放3-甲基-2-己烯酸。

在本发明的另一实施方案中,纺织品随后通过本领域技术人员已知的任何合适的方法热处理,例如,通过在30到100°C范围的温度下干燥或者通过在至少100°C,优选至少101°C到高达150°C,优选高达135°C的温度下热固定。在优选实施方案中,处理可以是热处理10秒到高达30分钟,优选30秒到高达10分钟。在本发明的另一优选实施方案中,两个热处理步骤在不同的温度下进行,例如,在第一步中,干燥在例如30到100°C的温度下进行例如10秒到20分钟,然后固定在例如101到135°C的温度下进行例如30秒到3分钟。

在优选实施方案中,纺织品和纺织品基质中包含的其他成分可以是如DE 40 35 378 中 DE 10101294.2 的所述的环糊精、如 EP-A1-1522626 中所述的含有直链淀粉的物质,所述纺织品和纺织品基质适于刺激固有皮肤微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不刺激暂居病原微生物菌群微生物的生长和/或适于抑制暂居病原微生物菌群的一种或多种微生物的生长并且其中不抑制健康正常固有皮肤微生物菌群微生物的生长。

典型地,环糊精是环式寡糖,其通过淀粉的酶促降解形成。优选地,用作根据本发明的纺织品或纺织品基质中成分的环糊精是 α 、 β 或 γ 环糊精,其例如分别由6、7或8个 α -1,4连接的葡萄糖单元组成。环糊精分子的特征性性质是它们的环状结构,具有大的恒定尺度。通常,环的内部直径对于 α -环糊精为约570 pm,对于 β -环糊精为约780 pm,对于 γ 环糊精为约950 pm。由于它们的结构,环糊精处于能够掺入客分子的位置中。在优选实施方案中,这些客分子可以包含如本领域技术人员已知的挥发性香

料。优选地，这些香料包括如下文所述的香料。

在进一步优选的实施方案中，本发明提供了含有直链淀粉的物质用于改变本发明的纺织品或纺织品基质的气味性质的用途。优选地，基于该物质在总重量，直链淀粉含量为按重量计至少 30 %。本发明还提供了改变本发明的纺织品的气味性质的方法，其特征在于将纺织品用直链淀粉或含直链淀粉的物质后处理，该物质的直链淀粉含量优选为按重量计至少 30 %。术语“直链淀粉或含直链淀粉的物质”指任何含直链淀粉的淀粉，例如，天然淀粉、改性淀粉和淀粉衍生物，其直链淀粉含量优选按重量计至少 30 %。淀粉可以是天然的，例如，玉米淀粉、小麦淀粉、马铃薯淀粉、高粱淀粉、米淀粉或者竹芋淀粉，其通过天然淀粉的部分水解得到或者化学修饰得到。也合适的是原状纯直链淀粉，例如，酶促得到的直链淀粉，例如，从蔗糖得到的直链淀粉。还合适的是直链淀粉和淀粉的混合物，优选如果直链淀粉的总含量基于混合物总重量为按重量计至少 30 % 时。对于直链淀粉和淀粉混合物，涉及直链淀粉或含直链淀粉的物质的所有重量百分比数据总是基于直链淀粉+淀粉的总质量，除非指出相反。

根据本发明尤其合适的是含直链淀粉的物质，尤其直链淀粉和含直链淀粉的淀粉，和直链淀粉/淀粉混合物，其直链淀粉含量基于该物质的总重量为按重量计至少 40 %，尤其按重量计至少 45 %。优选地，直链淀粉含量将不超过按重量计 90 %，尤其按重量计 80 %。此类物质是本领域技术人员已知的并且可通过商业途径获得。

为了实现气味改变效果，本发明的纺织品可以一般用本领域技术人员已知的任何合适量的含直链淀粉的物质后处理，所述量优选为按重量计至少 0.5%，更优选按重量计至少 1%，尤其按重量计至少 2%，每种情况下都基于纺织品的重量。优选地，含直链淀粉的物质可以以基于纺织品重量不超过按重量计 25 %，通常不超过按重量计 20 %，尤其不超过按重量计 15 % 的量使用以便不会不利地影响纺织品的触感。

在本发明的进一步优选的实施方案中，为了改善气味性质，本发明的纺织品材料用原样的含有直链淀粉的物质后处理。然而，也可能的是一起

使用含直链淀粉的物质与香料以便实现纺织品的持久的令人愉快的气味或者香味。优选地，该方法涉及用含直链淀粉的物质处理本发明的纺织品或者用本发明的微生物和含直链淀粉的物质同时处理纺织品。以这种方式后处理的纺织品然后可以用香料处理。结果，含直链淀粉的物质携带上香料。

在另一优选实施方案中，本发明的纺织品或纺织品基质可以用香料后处理，所述纺织品或纺织品基质用本发明的微生物或如上述的该微生物的突变体、衍生物或无活性形式配制。

优选地，根据上面实施方案任一个使用的香料可以以如本领域技术人员已知的足够实现所希望的香味效果的量使用。上限通过所用的含直链淀粉的物质的直链淀粉单元的最大吸收能力决定并且将基于该物质的直链淀粉含量，一般不超过按重量计 20%，通常按重量计 10%。如果希望，香料通常以按重量计 0.1 到 10%，尤其 0.5 到 5% 的量使用。

合适的香料原则上是已知为香料的所有挥发性有机化合物和有机化合物的混合物。香料的综述在 Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 第五版(CD Rom), Flavours and Fragrances, 第 2 章, 尤其 2.1 到 2.4 章中给出。根据本发明尤其合适的是脂族和脂环族性质的香料。这些包括：脂族 C4-C12-醇，例如，3-辛醇、顺式-3-己烯-1-醇、反式-3-己烯-1-醇、1-辛烯-3-醇、2,6-二甲基庚-2-醇、1-辛烯-3-醇、9-癸烯-1-醇、10-十一碳烯-1-醇、2-反式-6-顺式-壬二烯-1-醇、脂族 C6-C13-醛，例如，己醛、辛醛、壬醛、癸醛、十一醛、2-甲基癸醛、2-甲基十一醛、月桂醛和十三醛、顺式-4-庚烯醛和 10-十一碳烯醛、脂族 C1-C6-羧酸与脂族、任选单不饱和 C1-C8-醇形成的酯，如甲酸乙酯、甲酸顺式-3-己烯酯、乙酸乙酯、乙酸丁酯、乙酸异戊酯、乙酸己酯、乙酸 3,5,5-三甲基己酯、乙酸反式-2-己烯酯、乙酸顺式-3-己烯酯、丙酸乙酯、丁酸乙酯、丁酸丁酯、丁酸异戊酯、丁酸己酯、异丁酸顺式-3-己烯酯、异戊酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、己酸乙酯、己酸 2-丙烯酯、庚酸乙酯、庚酸 2-丙烯酯和辛酸乙酯、无环萜烯烃类和烯醇，如橙花醇、香叶醇、四氢香叶醇、里哪醇、四氢里哪醇、香

茅醇、熏衣草醇、月桂烯醇、法尼醇、橙花叔醇、这些醇的甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、丁酸酯、戊酸酯和异丁酸酯，对应于上述醇的醛，如橙花醛、香茅醛、羟基二氢香茅醛、甲氧基二氢香茅醛和这些醛的二甲缩醛和二乙缩醛，如二乙基橙花醛、甲氧基二氢香茅醛-二甲基乙缩醛，以及环状萜烯烃类、烯醇和醛类。这些也可以包括天然来源的香料，如玫瑰油、柠檬油、熏衣草油和丁香油。

从而，本发明也涉及纺织品或纺织品基质，其包含如上文所述的本发明方面(i)或(ii)的微生物或如上文所述的其衍生物、突变体或无活性形式，或者如上文所述的本发明的方面(i)和(ii)的微生物的组合。“包含”可以例如指结合或掺入本发明的微生物，或者如上文所述的其衍生物、突变体或无活性形式，尤其以上述方法之一产生的形式。

将理解本发明不限于本文所述的具体方法、方案、细菌、载体和试剂，因为这些可以改变。还将理解本文所用的术语仅仅用于描述具体实施方案的目的，并且不意在限制本发明的范围，该范围将仅仅受到所附权利要求的限制。除非另外定义，否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的相同的含义。

优选地，本文所用的术语如“A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)”, Leuenberger, H.G.W, Nagel, B. and Kölbl, H. eds. (1995), Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basel, 瑞士)中描述的定义。在本说明书和下面的权利要求书中，除非上下文需要，否则词语“包含”和变型，如“含有”和“包括”将被理解为暗示包括所述的整数或步骤或者整数或步骤的组，但是不排除任何其他整数或步骤或整数和步骤的组。

在说明书全文引用了一些文献。将本文引用的每个文献(包括所有专利、专利申请、科学出版物、生产商的说明书、使用说明书等等)(无论上文或下文)都完整引入本文作为参考。并不理解为承认本发明无权作为先前发明而在此类公开之前。

应该注意如本文和所附权利要求书中所用，单数形式“一个”、“一种”、

“这个”包括复数指代，除非上下文明确指出相反。从而，例如，对“一种试剂”的指代包括一种或多种此类不同的试剂，并且“这个方法”包括指代本领域技术人员已知的等同步骤和方法，其可以是修改的方法或替代本文所述的方法。

通过下面所述的图 1 到 12 阐明本发明。

图 1 显示在体外孔平板测定中表皮葡萄球菌的生长刺激(实施例 1)。孔周围形成的黑色菌环表明指示菌株表皮葡萄球菌的生长刺激。在显微镜下观察菌落增加的数量。

图 2 显示乳杆菌对皮肤上表皮葡萄球菌的刺激作用。图中显示了含有共同应用于皮肤的指示菌株表皮葡萄球菌和乳杆菌的琼脂平板。上层皮肤用粘性胶带转移到琼脂平板上。通过此种方法将指示菌株转移到琼脂平板上。对照平板不含有乳杆菌菌株。

图 3 显示乳杆菌缺乏对皮肤上金黄色葡萄球菌的刺激。图中显示了含有共同应用于皮肤的指示菌株金黄色葡萄球菌和乳杆菌的琼脂平板。上层皮肤用粘性胶带转移到琼脂平板上。通过此种方法将指示菌株转移到琼脂平板上。对照平板不含有乳杆菌菌株。

图 4 显示在体外孔平板测定中缺乏金黄色葡萄球菌的生长刺激(实施例 4)。观察到孔周围没有形成细胞密度增加黑色菌环。这表明指示菌株没有被乳杆菌刺激。

图 5 显示在体外孔平板测定中金黄色葡萄球菌的生长抑制(实施例 5)。孔周围形成的透明环表明指示对菌株金黄色葡萄球菌的生长抑制。

图 6 显示在体外液体测定中金黄色葡萄球菌的生长抑制(实施例 6)。图中显示与不含乳酸菌的对照相比，通过计数指示菌株金黄色葡萄球菌的菌落形成单位来定量的抑制程度。

图 7 显示在体外液体测定中缺乏对表皮葡萄球菌的生长抑制(实施例 7)。图中显示与不含乳酸菌的对照相比，通过计数指示菌株表皮葡萄球菌的菌落形成单位来定量的抑制程度。

图 8 显示在体外液体测定中缺乏对藤黄微球菌的生长抑制(实施例

10)。图中显示与不含乳酸菌的对照相比,通过计数指示菌株藤黄微球菌的菌落形成单位定量的抑制程度。

图 9 显示在体外液体测定中缺乏对大肠杆菌的生长抑制(实施例 11)。图中显示与不含乳酸菌的对照相比,通过计数指示菌株大肠杆菌的菌落形成单位定量的抑制程度。

图 10 显示在体外孔平板测定中,与杆菌肽和红霉素相比,对金黄色葡萄球菌生长抑制的程度(实施例 12)。以不同浓度的杆菌肽和红霉素填充预先打好的孔,观察金黄色葡萄球菌的生长。在图 10A 中显示对应的校准曲线。在图 10B 中显示确定数量的预培养乳杆菌细胞(DSM 18006)对金黄色葡萄球菌的生长抑制。

图 11 显示乳杆菌抑制物的蛋白酶稳定性(实施例 13)。乳杆菌 DSM 18006 的抗菌活性通过蛋白酶 K、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶和灰色链霉菌蛋白酶的降解稳定性来表征。

图 12 显示了用金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、OB-LB-Sa3 和 OB-LB-H4 (实施例 14)进行的液体抑制测定法。金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌已经以 1 CFU/ml (表皮葡萄球菌) 和 100 CFU/ml (金黄色葡萄球菌) 的浓度接种。已经在 OB-LB-Sa3 和 OB-LB-H4 的存在下进行了共同培育。箭头指出表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌浓度之间的平衡点(point of parity)。

通过下面的实施例 1 到 14 阐明本发明。

实施例 1

体外孔平板测定中表皮葡萄球菌的生长刺激

在体外孔平板测定中已经鉴定特定乳酸菌能够刺激琼脂平板上表皮葡萄球菌的生长。此处描述这些乳酸菌。为了测试此种作用,用预培养的乳酸菌填充预先打好的孔,并观察指示菌株表皮葡萄球菌的生长刺激。为提高生长刺激的可视效果,使用亚碲酸盐。亚碲酸盐特异性地染色葡萄球菌。灌入乳酸菌的孔周围形成黑色菌环并且菌落数增加即定义为刺激。数

据在图 1 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子是封闭的并且在 37℃培育 2 天。将 10 μ l 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000 $\times$ g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在 200 μ l K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是表皮葡萄球菌(DSM20044)。用 15 μ l 预培养 24 小时的培养液接种含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在 37℃培养 24 小时。以 BHI 培养液将整分试样稀释到光密度 OD_{595nm} 为 0.025 - 0.05, 取 800 μ l 涂布于指示平板上(BHI/亚碲酸盐)。用木塞打孔器在琼脂上打孔。用预培养的乳酸菌填充这些孔。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
BHI/亚碲酸盐	与 BHI-琼脂类似, 在冷却到 50℃以后, 将 1 ml 无菌过滤的 1 % 亚碲酸钾溶液转移到 100 ml BHI-培养基中; 每板 20 ml
MRS-培养液	Difco, 150 μ l/孔
K/Na-缓冲液	Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M Na ₂ HPO ₄ $\times$ 2H ₂ O 61.2 ml - 0.066 M KH ₂ PO ₄ 38.8 ml

实施例 2

原位皮肤测定中表皮葡萄球菌的生长刺激

经鉴定益生乳酸菌能直接在皮肤上刺激表皮葡萄球菌的生长。

将表皮葡萄球菌的培养液稀释, 直接应用于皮肤上, 并在空气中干燥。

然后将乳酸菌的整分试样精确应用于此皮肤区域。乳酸菌能直接在皮肤上刺激指示菌株表皮葡萄球菌。培育之后,使用粘性胶带将葡萄球菌从皮肤转移到琼脂平板上。将琼脂平板在 37℃ 培养。菌落计数的增加表明皮肤上指示菌株的生长刺激(图 2)。本发明的乳杆菌菌株,特别是那些保藏于 DSMZ 的乳杆菌菌株,展现对此处所述指示菌株的生长刺激。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃ 培育 2 天。10 µl 此预培养液转移到含 7 ml MRS 培养液的福尔肯管中的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在 200µl K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是表皮葡萄球菌(DSM20044)。用 15 µl 预培养 24 小时的培养液接种含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在 37℃ 培养 24 小时。以 BHI 培养液将整分试样稀释到光密度 OD_{595nm} 为 0.025 - 0.05。再一次稀释此溶液(1 :100)。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco, 150 µl/孔
K/Na-缓冲液	Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M Na ₂ HPO ₄ ×2H ₂ O 61.2 ml - 0.066 M KH ₂ PO ₄ 38.8 ml

在前臂上应用表皮葡萄球菌:

取制备好的指示菌株表皮葡萄球菌的 1 :100 的稀释液 400 µl, 均匀涂布于确定皮肤区域(10 cm×3 cm), 并且在空气中干燥。

在表皮葡萄球菌接种的皮肤区域应用乳杆菌：

将 10 μ l 制备好的乳杆菌准确应用于预先接种表皮葡萄球菌的皮肤区域。在正常环境中在手臂上培育 2 小时。

将微生物从皮肤上重新分离：

2 小时后，使用粘性胶带将 4 层上层皮肤转移到 BHI-琼脂平板上。通过此过程，将分离的皮肤细菌转移到琼脂平板上。琼脂平板在 37℃ 培养 24 小时。

实施例 3

原位皮肤测定中金黄色葡萄球菌没有生长刺激

使用此测定可以检验能够刺激防护性固有皮肤微生物菌群细菌的乳杆菌是否并不刺激不需要的暂居病原菌群的细菌。为此目的，指示菌株金黄色葡萄球菌被高度稀释，并以与表皮葡萄球菌一样的方式应用于皮肤上（见实施例 2）。再测试乳酸菌的刺激活性。并没有观察到所述乳酸菌对金黄色葡萄球菌的刺激。本发明的乳杆菌菌株，特别是那些保藏于 DSMZ 的乳杆菌菌株，不显示对金黄色葡萄球菌的刺激。数据在图 3 中给出。

乳杆菌的培养和制备：

乳酸菌从 -80℃ 冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃ 培育 2 天。将 10 μ l 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心（15 分钟，4000 $\times$ g）收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次（每次 1 ml）。在 200 μ l K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备：

指示菌株是金黄色葡萄球菌（DSM346）。用 15 μ l 预培养 24 小时的培养

液接种在含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在 37°C 培养 24 小时。以 BHI 培养液将整分试样稀释到光密度 OD_{595nm} 为 0.025-0.05。再一次稀释此溶液(1 :100)。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco, 150 μ l/孔
K/Na-缓冲液	Köster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌
	- 0.066 M $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$ 61.2 ml
	- 0.066 M KH_2PO_4 38.8 ml

在前臂上应用金黄色葡萄球菌:

取制备好的指示菌株金黄色葡萄球菌的 1 :100 稀释液 400 μ l, 均匀涂布于确定皮肤区域(10 cm $\times$ 3 cm), 并且在空气中干燥。

在金黄色葡萄球菌接种的皮肤区域应用乳杆菌:

将 10 μ l 制备好的乳杆菌准确应用于预先接种金黄色葡萄球菌的皮肤区域。在正常环境中在手臂上培育 2 小时。

将微生物从皮肤上重新分离:

2 小时后, 使用粘性胶带将 4 层上层皮肤转移到 BHI-琼脂平板上。通过此过程, 分离出来的皮肤细菌被转移到琼脂平板上。琼脂平板在 37°C 培养 24 小时。数据在图 3 中显示。

实施例 4

在体外孔平板测定中金黄色葡萄球菌没有生长刺激

经鉴定特定乳酸菌在体外孔平板测定中能够在琼脂平板上刺激表皮

葡萄球菌的生长,但是不能刺激暂居皮肤菌群的代表金黄色葡萄球菌的生长。为测试此种作用,用预培养的能够刺激表皮葡萄球菌的乳酸菌填充到预先打好的孔中,并没有观察到指示菌株金黄色葡萄球菌的生长刺激。为提高生长刺激的可视效果,使用亚碲酸盐。亚碲酸盐特异性地将葡萄球菌染色。含有乳酸菌的孔周围形成黑色菌环并且菌落数增加即定义为刺激。本发明的乳杆菌菌株,特别是那些保藏于 DSMZ 的乳杆菌菌株,不显示对金黄色葡萄球菌的刺激。数据在图 4 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃培育 2 天。将 10 µl 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在 200µl K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是金黄色葡萄球菌(DSM346)。15 µl 预培养 24 小时的培养液接种于含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在 37℃培养 24 小时。以 BHI 培养液稀释整分试样到光密度 OD_{595nm} 为 0.025 - 0.05, 取 800 µl 涂布于指示平板上(BHI/亚碲酸盐)。用木塞打孔器在琼脂上打孔。用预培养的乳酸菌填充这些孔。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
BHI/亚碲酸盐	与 BHI-琼脂类似, 在冷却到 50℃以后, 将 1 ml 无菌过滤的 1 % 亚碲酸钾溶液转移到 100 ml BHI-培养基中; 每板 20 ml

MRS-培养液	Difco, 150 µl/孔
K/Na-缓冲液	Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌
	- 0.066 M Na₂HPO₄×2H₂O 61.2 ml
	- 0.066 M KH₂PO₄ 38.8 ml

实施例 5

体外孔平板测定中金黄色葡萄球菌的生长抑制

已经鉴定特定乳酸菌能够在体外孔平板测定中特异性抑制琼脂平板上金黄色葡萄球菌的生长。为了测试此作用，用预培养的乳酸菌填充预先打好的孔，并观察指示菌株金黄色葡萄球菌的生长抑制。数据在图 5 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006)从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃培育 2 天。将 10 µl 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在 200 µl K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是金黄色葡萄球菌(DSM346)。用 15 µl 预培养 24 小时的培养液接种含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶。指示菌株在 37℃培养 24 小时。以 BHI 培养液稀释整分试样到光密度 OD_{595nm} 为 0.025 - 0.05, 取 800 µl 涂布于指示平板上(BHI)。用木塞打孔器在琼脂上打孔。用 5 µl 或 10 µl 预培养的乳酸菌填充这些孔。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
---------------	--------------------------------

BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M Na ₂ HPO ₄ ×2H ₂ O 61.2 ml - 0.066 M KH ₂ PO ₄ 38.8 ml

实施例 6

体外液体测定中金黄色葡萄球菌的生长抑制

在体外液体测定中已经鉴定特定乳酸菌能够抑制液体培养基中金黄色葡萄球菌的生长。为了测试此种作用，将预培养的乳酸菌与指示菌株金黄色葡萄球菌在对葡萄球菌生长最佳的液体培养基中共培养。通过计数指示菌株菌落形成单位并与没有乳酸菌的对照相比较来定量抑制的程度。数据在图 6 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006)从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃培育 2 天。10 µl 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在含 250 mM 甘油的 200 µl K/Na 缓冲液中重悬细胞, 并培养 17 小时。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是金黄色葡萄球菌(DSM346)。15 µl 预培养 24 小时的培养液接种于含有 10 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。培养物用新鲜 BHI 培养液稀释到细胞密度为 2.5×10^8 个细胞/ml。

液体抑制测定

对于液体测定, 将 5 µl 新鲜配制的乳酸菌(从 200 µl)和 10 µl 预培养的

指示菌株金黄色葡萄球菌接种在 10 ml 的 BHI 培养液中共培养。培养 7 小时。然后将 100 μ l 的 1:10000 的稀释液涂布在 BHI 琼脂平板上,用于定量菌落形成单位。平板培养 24 小时,并计数菌落形成单位。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌
	- 0.066 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 61.2 ml
	- 0.066 M KH_2PO_4 38.8 ml

实施例 7

体外液体测定中表皮葡萄球菌没有生长抑制

使用此测定可以检验在体外液体测定中,所选能够抑制病原微生物金黄色葡萄球菌生长的乳酸菌是否并不抑制皮肤共生微生物菌群主要成员表皮葡萄球菌的生长。

为测试此作用,将预培养的乳酸菌与指示菌株在液体培养基中共培养。通过计数指示菌株菌落形成单位并与没有乳酸菌的对照相比较来定量抑制的程度。数据在图 7 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006)从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃培育 2 天。10 μ l 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000 $\times$ g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在含 250 mM 甘油的 200 μ l K/Na 缓冲液中重悬细胞,并培养 17 小时。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是表皮葡萄球菌(DSM20044)。15 µl 预培养 24 小时的培养液接种于含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。

液体抑制测定

对于液体测定, 将 5 µl 新鲜配制的乳酸菌(从 200 µl)和 10 µl 预培养的指示菌株表皮葡萄球菌在 10 ml BHI 培养基中共培养。培养 7 小时。然后将 100 µl 的 1:10000 的稀释液涂布在 BHI 琼脂平板上, 用于定量菌落形成单位。平板培养 24 小时, 并计数菌落形成单位。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M Na ₂ HPO ₄ ×2H ₂ O 61.2 ml - 0.066 M KH ₂ PO ₄ 38.8 ml

实施例 8

原位皮肤测定中金黄色葡萄球菌的生长抑制

经鉴定乳酸菌能直接在皮肤上抑制金黄色葡萄球菌的生长。

为测试此作用, 将金黄色葡萄球菌的培养液稀释, 直接应用于皮肤上, 并在空气中干燥。然后将乳酸菌的整分试样应用于此皮肤区域。这样在皮肤上乳酸菌能直接抑制指示菌株金黄色葡萄球菌。培育之后, 使用粘性胶带将葡萄球菌从皮肤转移到琼脂平板上。将琼脂平板在 37℃ 培养。与没有乳酸菌的对照相比, 菌落计数的减少表明皮肤上指示菌株的生长抑制。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006)从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃培育 2 天。10 µl 此预培养液

转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在 200 µl K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是金黄色葡萄球菌(DSM346)。15 µl 预培养 24 小时的培养液接种于含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在 37℃ 培养 24 小时。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M Na ₂ HPO ₄ ×2H ₂ O 61.2 ml - 0.066 M KH ₂ PO ₄ 38.8 ml

在前臂上应用金黄色葡萄球菌:

取预制备的指示菌株金黄色葡萄球菌的 1:100 的稀释液 400 µl, 均匀涂布于确定皮肤区域(10cm×3cm), 并且在空气中干燥。

在金黄色葡萄球菌接种的皮肤区域应用乳杆菌:

将 10 µl 制备好的乳杆菌应用于预先接种金黄色葡萄球菌的皮肤区域。在正常环境中在手臂上培育 6 小时。

将微生物从皮肤上重新分离:

6 小时后, 使用粘性胶带将 4 层上层皮肤转移到 BHI-琼脂平板上。这样, 分离出来的皮肤细菌被转移到琼脂平板上。琼脂平板在 37℃ 培养 24

小时。

实施例 9

原位皮肤测试中表皮葡萄球菌没有生长抑制

经鉴定乳酸菌能抑制金黄色葡萄球菌的生长而不直接影响皮肤上的表皮葡萄球菌的生长。

使用此测定可以检验能够抑制金黄色葡萄球菌的乳杆菌是否并不抑制健康正常皮肤菌群的共生微生物表皮葡萄球菌。

因此以与金黄色葡萄球菌一样的方式将指示菌株表皮葡萄球菌高度稀释并应用于皮肤。再测试乳酸菌的抑制活性。没有观察到所述乳酸菌对表皮葡萄球菌的抑制。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006)从-80℃冻存的含1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在37℃培育2天。将10 µl 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养2天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗2次(每次1 ml)。在200 µl K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是表皮葡萄球菌(DSM20044)。15 µl 预培养24小时的培养液接种于含有20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在37℃培养24小时。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌

- 0.066 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 61.2 ml

- 0.066 M KH_2PO_4 38.8 ml

在前臂上应用表皮葡萄球菌:

取制备好的指示菌株表皮葡萄球菌的 1:100 的稀释液 400 μl , 均匀涂布于确定皮肤区域(10cm $\times$ 3cm), 并且在空气中干燥。

在接种表皮葡萄球菌的皮肤区域应用乳杆菌:

将 10 μl 制备好的乳杆菌应用于预先接种表皮葡萄球菌的皮肤区域。在正常环境中在手臂上培育 6 小时。

将微生物从皮肤上重新分离:

6 小时后, 使用粘性胶带将 4 层上层皮肤转移到 BHI-琼脂平板上。这样, 分离出来的皮肤细菌被转移到琼脂平板上。琼脂平板在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 小时。

实施例 10

体外液体测定中藤黄微球菌没有生长抑制

在体外液体测定中, 所选能够抑制病原微生物金黄色葡萄球菌生长的乳酸菌并不抑制皮肤共生微生物菌群相关成员藤黄微球菌的生长。为测试此种作用, 将预培养的乳酸菌与指示菌株在液体培养基中共培养。通过计数指示菌株菌落形成单位并与没有乳酸菌的对照比较来定量抑制的程度。数据在图 8 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006 和 OB-LB-Sa16; DSM 18007)从-80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培育 2 天。10 μl 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000 $\times g$)收集细胞。

细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在含 250 mM 甘油的 200 μ l K/Na 缓冲液中重悬细胞，并培养 17 小时。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是藤黄微球菌。用 15 μ l 冷冻培养物接种于含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中预培养 24 小时。

液体抑制测定

对于液体测定，将 5 μ l 新鲜配制的乳酸菌(从 200 μ l)和 10 μ l 预培养的指示菌株藤黄微球菌在 10 ml BHI 培养基中共培养。培养 7 小时。然后将 100 μ l 的 1 :1000 的稀释液涂布在 BHI 琼脂平板上，用于定量菌落形成单位。平板培养 24 小时，并计数菌落形成单位。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 61.2 ml - 0.066 M KH_2PO_4 38.8 ml

实施例 11

体外液体测定中大肠杆菌没有生长抑制

在体外液体测定中，所选能够抑制病原微生物金黄色葡萄球菌生长的乳酸菌并不抑制其它人相关微生物如大肠杆菌。

为测试此作用，将预培养的乳酸菌与指示菌株在液体培养基中共培养。通过计数指示菌株菌落形成单位并与没有乳酸菌的对照相比较来定量抑制的程度。数据在图 9 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006 和 OB-LB-Sa16; DSM 18007)从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃培育 2 天。将 10 µl 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在含 250 mM 甘油的 200 µl K/Na 缓冲液中重悬细胞, 并培养 17 小时。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是大肠杆菌。用 15 µl 冷冻培养物接种于含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中预培养 24 小时。

液体抑制测定

对于液体测定, 将 5 µl 新鲜配制的乳酸菌(从 200 µl)和 10 µl 预培养的指示菌株大肠杆菌接种在 10 ml BHI 培养基中共培养。培养 7 小时。然后将 100 µl 的 1:1000 的稀释液涂布在 BHI 琼脂平板上, 用于菌落形成单位定量。平板培养 24 小时, 并计数菌落形成单位。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M Na ₂ HPO ₄ ×2H ₂ O 61.2 ml - 0.066 M KH ₂ PO ₄ 38.8 ml

实施例 12

在体外孔平板测定中, 与杆菌肽和红霉素相比, 对金黄色葡萄球菌的

生长抑制程度

在体外孔平板测定中已经鉴定特定乳酸菌能够特异性地抑制琼脂平板上金黄色葡萄球菌的生长。将这种作用与杆菌肽和红霉素的商业抗生素乳膏制剂相比较。为比较这种作用，将不同浓度的两种抗生素填充到预先打好的孔中，观察到对指示菌株金黄色葡萄球菌的生长抑制(图 10A 中给出校准曲线)。测量抑制区的直径，并计算其抑制面积。然后通过确定数目的预培养的乳杆菌菌株 OB-LB-Sa3 (DSM 18006)细胞，将此面积与金黄色葡萄球菌的生长抑制相关联(见图 10B)。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006)从-80℃冻存的含 1ml MRS 培养液的微量离心管中取出培养。管子封闭的在 37℃培育 2 天。将 10 µl 此预培养液转移到 Falcon 塑料管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在 200µl K/Na 缓冲液中重悬细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是金黄色葡萄球菌(DSM346)。15 µl 预培养 24 小时的培养液接种于含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在 37℃培养 24 小时。以 BHI 培养液稀释整分试样到光密度 OD_{595nm} 为 0.025 - 0.05, 取 800 µl 涂布于指示平板上(BHI)。用木塞打孔器在琼脂上打孔。用 5 µl 或 10 µl 预培养的乳酸菌或相应体积的商业抗生素制剂填充这些孔。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌

- 0.066 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 61.2 ml

- 0.066 M KH_2PO_4 38.8 ml

实施例 13

乳杆菌抑制性物质的蛋白酶稳定性

已经鉴定了特定乳酸细菌，其能够在体外孔平板测定中特异抑制琼脂平板上金黄色葡萄球菌的生长。已经表征了所选乳杆菌的抗微生物活性，涉及蛋白酶 K、灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*)蛋白酶、胰凝乳蛋白酶和胰蛋白酶的可消化性。已经制备了乳杆菌上清液的无细胞制剂并与不同蛋白酶在 37°C 温育 1 小时。之后，已经测试了这些制剂抑制指示菌株金黄色葡萄球菌生长的能力。已经测量了抑制圈的直径并且计算了抑制面积(见图 11)。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸细菌(OB-LB-Sa3; DSM 18006)从-80°C冻存的含 7 ml MRS 培养液的 falcon 管中取出培养。管子封闭并在 37°C 培育 2 天。将 7 ml 此预培养液转移到培养瓶中含 40 ml MRS 培养液的主培养液中。培养物培育 2 天。培养后通过离心(15 分钟, 4000×g)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 2 ml)。在 10 ml BHI 培养基中重悬细胞并 37°C 培育 6 小时。通过离心(15 min, 4000 x g)收获细胞并将上清液用于蛋白酶温育。具体地, 将 150 μl 上清液与 15 μl 10 mg/ml 蛋白酶溶液在 37°C 温育。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株是金黄色葡萄球菌(DSM346)。15 μl 预培养 24 小时的培养液接种于含有 20 ml BHI 培养液的振摇的玻璃培养瓶中。指示菌株在 37°C 培养 24 小时。以 BHI 培养液稀释整分试样到光密度 $\text{OD}_{595\text{nm}}$ 为 0.025 - 0.05, 取 800 μl 涂布于指示平板上(BHI)。用木塞打孔器在琼脂上打孔。用 5 μl 或 10 μl 预培养的细胞填充这些孔并与 15 μl 10 mg/ml 蛋白酶溶液在 37°C 温育 1 小时。之后, 5 μl 或 10 μl 蛋白酶处理的乳杆菌上清液用于抑制测

定。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌 - 0.066 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 61.2 ml - 0.066 M KH_2PO_4 38.8 ml

实施例 14

体外液体测定法中通过组合 OB-LB-Sa3 (DSM18006)和 OB-LB-H4 (DSM17250) 进行皮肤微生物菌群再平衡

已经发现 OB-LB-Sa3 (DSM18006) 和 OB-LB-H4 (DSM17250)能够在体外液体测定法中使液体培养基中金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的不利的比例特异反转。为了测试该效果, 在经优化用于生长葡萄球菌的液体培养基中, 将预培养的乳酸细菌与不同比例的指示菌株表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌共同培育。通过与没有乳酸细菌的对照相比, 计数指示菌株的菌落形成单位来定量表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌的比例。数据在图 12 中显示。

乳杆菌的培养和制备:

乳酸细菌 (OB-LB-Sa3 (DSM18006) 和 OB-LB-H4 (DSM17250))从 -80°C 冻存的含 1 ml MRS 培养液的 eppendorf 管中取出分别培养。管子封闭并在 37°C 培育 2 天。将 10 ml 此预培养液转移到 falcon 管中含 7 ml MRS 培养液的主培养液中。培养 2 天。培养后通过离心(15 分钟, $4000\times g$)收集细胞。细胞沉淀用 K/Na-缓冲液清洗 2 次(每次 1 ml)。在 200 μl K/Na 缓冲液中重悬浮细胞。

指示菌株的培养和制备:

指示菌株表皮葡萄球菌(DSM20044)和金黄色葡萄球菌 (DSM346)分别培养。玻璃摇瓶中的 10 ml BHI 培养液各自接种 15 μ l 冷冻培养物进行 24 小时的预培养。两种培养物都用新鲜 BHI 培养液稀释到 1×10^7 CFU/ml 的细胞数。

液体抑制测定法:

对于液体抑制测定法, 在 10 ml BHI 培养液中接种不同体积的新鲜制备的乳酸细菌(来自 200 μ l)和不同体积和比例的预培养的指示菌株表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌进行共同培养。OB-LB-Sa3 (DSM18006) 和 OB-LB-H4 (DSM17250)以 50:50 的比例使用。培养物培育 24 小时。在不同的时间点, 将 100 μ l 合适的稀释液在 BHI 琼脂平板上涂布用于定量两种指示菌株的菌落形成单位。平板在 37°C 培育 24 小时并测定两种指示菌株的菌落形成单位。

培养基和缓冲液:

BHI-琼脂	1.8% Difco 琼脂; 每板 20 ml
BHI-培养基	Difco
MRS-培养液	Difco
K/Na-缓冲液	根据 Küster Thiel, pH 7.0, 高压灭菌
	- 0.066 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 61.2 ml
	- 0.066 M KH_2PO_4 38.8 ml

引用的参考文献

- Aly, R., Maibach, H.I., Shinefield, H.R., Strauss, W.G. (1972): Survival of pathogenic microorganisms on human skin. *J Invest Dermatol.* 58(4): 205-210.
- Bisno, A.L. (1984): Cutaneous infections: microbiologic and epidemiologic considerations. *Am J Med.* 76(5A): 172-179.
- Brook, I. (2000): The effects of amoxicillin therapy on skin flora in infants. *Pediatr Dermatol.* 17(5): 360-363.
- Elek, S.D. (1956): Experimental staphylococcal infections in the skin of man. *Ann. NY Acad Sci.* 65: 85-90.
- Feingold, D.S. (1985): Cutaneous microbial flora. *Cutis.* 36(5A): 1.
- Gfatter, R., Hackl, P., Braun, F. (1997): Effects of soap and detergents on skin surface pH, stratum corneum hydration and fat content in infants. *Dermatology.* 195(3): 258-262.
- Gibbons, R.J., Houte, J.V. (1975): Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annu Rev Microbiol.* 1975;29: 19-44.
- Hurst, V. (1959): Transmission of hospital staphylococci among newborn infants. *Pediatrics* 25: 204-214.
- Imokawa, G., Akasaki, S., Hattori, M., Yoshizuka, N. (1986): Selective recovery of deranged water-holding properties by stratum corneum lipids. *J Invest Dermatol.* 87(6): 758-761.
- Korting, H.C. (1992): Einfluß des pH-Wertes auf das Wachstum von *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* und *Propionibacterium acnes* in kontinuierlicher Kultur. *Zbl. Hyg.* 193: 78-90.
- Korting, H.C., Hübner, K., Greiner, K., Hamm, G., Braun-Falco, O. (1990): Unterschiede des Hautoberflächen-pH-Wertes und der bakteriellen Mikroflora durch Langzeit-Anwendung synthetische Detergenz-Zubereitungen mit pH 5,5 und pH 7,0 in *Acta Derm Venereol.* 70: 429-457.
- Larson, E. (2001): Hygiene of the skin: when is clean too clean? *Emerg Infect Dis.* 7(2): 225-230.

Leyden, JJ., McGinley, KJ., Nordstrom, KM., Webster, GF. (1987): Skin microflora. J Invest Dermatol. 88(3): 65-72.

Lukas, A. (1990): Beeinflußbarkeit des Wachstums wichtiger Bakterien der Residentflora in-vitro durch den pH-Wert. In: O. Braun-Falco, HC. Korting (Hrsg.): Hautreinigung mit Syndets, 104-112.

Milyani, RM., Selwyn, S. (1978): Quantitative studies on competitive activities of skin bacteria growing on solid media. J Med Microbiol. 11(4): 379-386.

Ohnishi, Y., Okino, N., Ito, M., Imayama, S. (1999): Ceramidase activity in bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis. Clin Diagn Lab Immunol. 6(1): 101-104.

Roth, RR., James, WD. (1988): Microbial ecology of the skin. Annu Rev Microbiol. 42: 441-464.

Selwyn, S., Ellis, H. (1972): Skin bacteria and skin disinfection reconsidered. Br Med J. 1(793): 136-140.

Sullivan, A., Edlund, C., Nord, CE. (2001): Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human micro flora. Lancet Infect Dis. 1(2): 101-114.

Yosipovitch, G., Maibach, HI. (1996): Skin surface pH: A protective acid mantle in Cosmetics Toiletries magazine 111 (12): 101

申请人或代理人卷号

国际申请号

M2826 PCT S3

与保藏的微生物或其它生物材料有关的声明

(PCT 细则第 13 条之 2)

A. 以下指示涉及说明书第 29 页第 12-23 行所指的保藏的微生物或其它生物材料	
B. 保藏鉴定	其它保藏物在另一页鉴定 ☐
保藏机构名称 德意志微生物保藏中心	
保藏单位地址(包括邮政编码和国家) 德国, 不伦瑞克, Mascheroder Weg 1b 38124	
保藏日 2005 年 4 月 18 日	保藏号 DSM 17247
C. 其它声明(如果没有可空出)	此信息在另一页中续
申请人利用第 28(3)和(4)EPC 规定的权利	
D. 声明适用的指定国(如果声明不用于所用指定国)	
E. 声明的单独提供(如果没有可空出) 下面列出的声明以后将提交给国际局(指定声明的一般性质, 例如“保藏物的保藏号”	
仅用于接受机构 该页连同国际申请一起收到	仅用于国际局 国际局收到此页
授权官员	授权官员

PCT/RO/134 表(1998 年 7 月; 2004 年 1 月重印)

申请人或代理人卷号

国际申请号

M2826 PCT S3

与保藏的微生物或其它生物材料有关的声明

(PCT 细则第 13 条之 2)

A. 以下指示涉及说明书第 29 页第 12-23 行所指的保藏的微生物或其它生物材料	
B. 保藏鉴定	其它保藏物在另一页鉴定 ☐
保藏机构名称 德意志微生物保藏中心	
保藏单位地址(包括邮政编码和国家) 德国, 不伦瑞克, Mascheroder Weg 1b 38124	
保藏日 2005 年 4 月 18 日	保藏号 DSM 17248
C. 其它声明(如果没有可空出)	此信息在另一页中续
申请人利用第 28(3)和(4)EPC 规定的权利	
D. 声明适用的指定国(如果声明不用于所用指定国)	
E. 声明的单独提供(如果没有可空出) 下面列出的声明以后将提交给国际局(指定声明的一般性质, 例如“保藏物的保藏号”	
仅用于接受机构 该页连同国际申请一起收到	仅用于国际局 国际局收到此页
授权官员	授权官员

PCT/RO/134 表(1998 年 7 月; 2004 年 1 月重印)

申请人或代理人卷号

国际申请号

M2826 PCT S3

与保藏的微生物或其它生物材料有关的声明

(PCT 细则第 13 条之 2)

A. 以下指示涉及说明书第 29 页第 12-23 行所指的保藏的微生物或其它生物材料	
B. 保藏鉴定	其它保藏物在另一页鉴定 []
保藏机构名称 德意志微生物保藏中心	
保藏单位地址(包括邮政编码和国家) 德国, 不伦瑞克, Mascheroder Weg 1b 38124	
保藏日 2005 年 4 月 18 日	保藏号 DSM 17249
C. 其它声明(如果没有可空出)	此信息在另一页中续
申请人利用第 28(3)和(4)EPC 规定的权利	
D. 声明适用的指定国(如果声明不用于所用指定国)	
E. 声明的单独提供(如果没有可空出) 下面列出的声明以后将提交给国际局(指定声明的一般性质, 例如“保藏物的保藏号”	
仅用于接受机构 该页连同国际申请一起收到	仅用于国际局 国际局收到此页
授权官员	授权官员

PCT/RO/134 表(1998 年 7 月; 2004 年 1 月重印)

申请人或代理人卷号

国际申请号

M2826 PCT S3

与保藏的微生物或其它生物材料有关的声明

(PCT 细则第 13 条之 2)

A. 以下指示涉及说明书第 29 页第 12-23 行所指的保藏的微生物或其它生物材料	
B. 保藏鉴定	其它保藏物在另一页鉴定 II
保藏机构名称 德意志微生物保藏中心	
保藏单位地址(包括邮政编码和国家) 德国, 不伦瑞克, Mascheroder Weg 1b 38124	
保藏日 2005 年 4 月 18 日	保藏号 DSM 17250
C. 其它声明(如果没有可空出)	此信息在另一页中续
申请人利用第 28(3)和(4)EPC 规定的权利	
D. 声明适用的指定国(如果声明不用于所用指定国)	
E. 声明的单独提供(如果没有可空出) 下面列出的声明以后将提交给国际局(指定声明的一般性质, 例如“保藏物的保藏号”	
仅用于接受机构 该页连同国际申请一起收到	仅用于国际局 国际局收到此页
授权官员	授权官员

PCT/RO/134 表(1998 年 7 月; 2004 年 1 月重印)

申请人或代理人卷号

国际申请号

M2826 PCT S3

与保藏的微生物或其它生物材料有关的声明

(PCT 细则第 13 条之 2)

A. 以下指示涉及说明书第 30 页第 8-17 行所指的保藏的微生物或其它生物材料	
B. 保藏鉴定	其它保藏物在另一页鉴定 []
保藏机构名称 德意志微生物保藏中心	
保藏单位地址(包括邮政编码和国家) 德国, 不伦瑞克, Mascheroder Weg 1b 38124	
保藏日 2006 年 2 月 24 日	保藏号 DSM 18006
C. 其它声明(如果没有可空出)	此信息在另一页中续
申请人利用第 28(3)和(4)EPC 规定的权利	
D. 声明适用的指定国(如果声明不用于所用指定国)	
E. 声明的单独提供(如果没有可空出) 下面列出的声明以后将提交给国际局(指定声明的一般性质, 例如“保藏物的保藏号”	
仅用于接受机构 该页连同国际申请一起收到	仅用于国际局 国际局收到此页
授权官员	授权官员

PCT/RO/134 表(1998 年 7 月; 2004 年 1 月重印)

申请人或代理人卷号

国际申请号

M2826 PCT S3

与保藏的微生物或其它生物材料有关的声明

(PCT 细则第 13 条之 2)

A. 以下指示涉及说明书第 30 页第 8-17 行所指的保藏的微生物或其它生物材料	
B. 保藏鉴定	其它保藏物在另一页鉴定 ☐
保藏机构名称 德意志微生物保藏中心	
保藏单位地址(包括邮政编码和国家) 德国, 不伦瑞克, Mascheroder Weg 1b 38124	
保藏日 2006 年 2 月 24 日	保藏号 DSM 18007
C. 其它声明(如果没有可空出)	此信息在另一页中续
申请人利用第 28(3)和(4)EPC 规定的权利	
D. 声明适用的指定国(如果声明不用于所用指定国)	
E. 声明的单独提供(如果没有可空出) 下面列出的声明以后将提交给国际局(指定声明的一般性质, 例如“保藏物的保藏号”	
仅用于接受机构 该页连同国际申请一起收到	仅用于国际局 国际局收到此页
授权官员	授权官员

PCT/RO/134 表(1998 年 7 月; 2004 年 1 月重印)

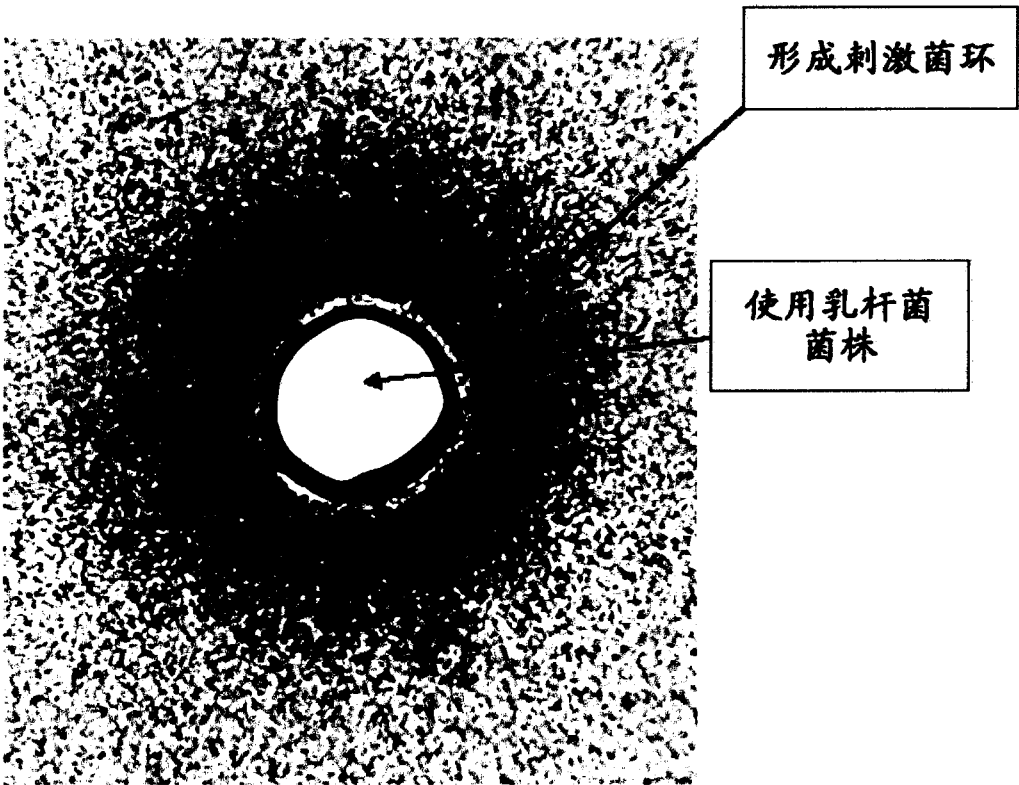


图 1

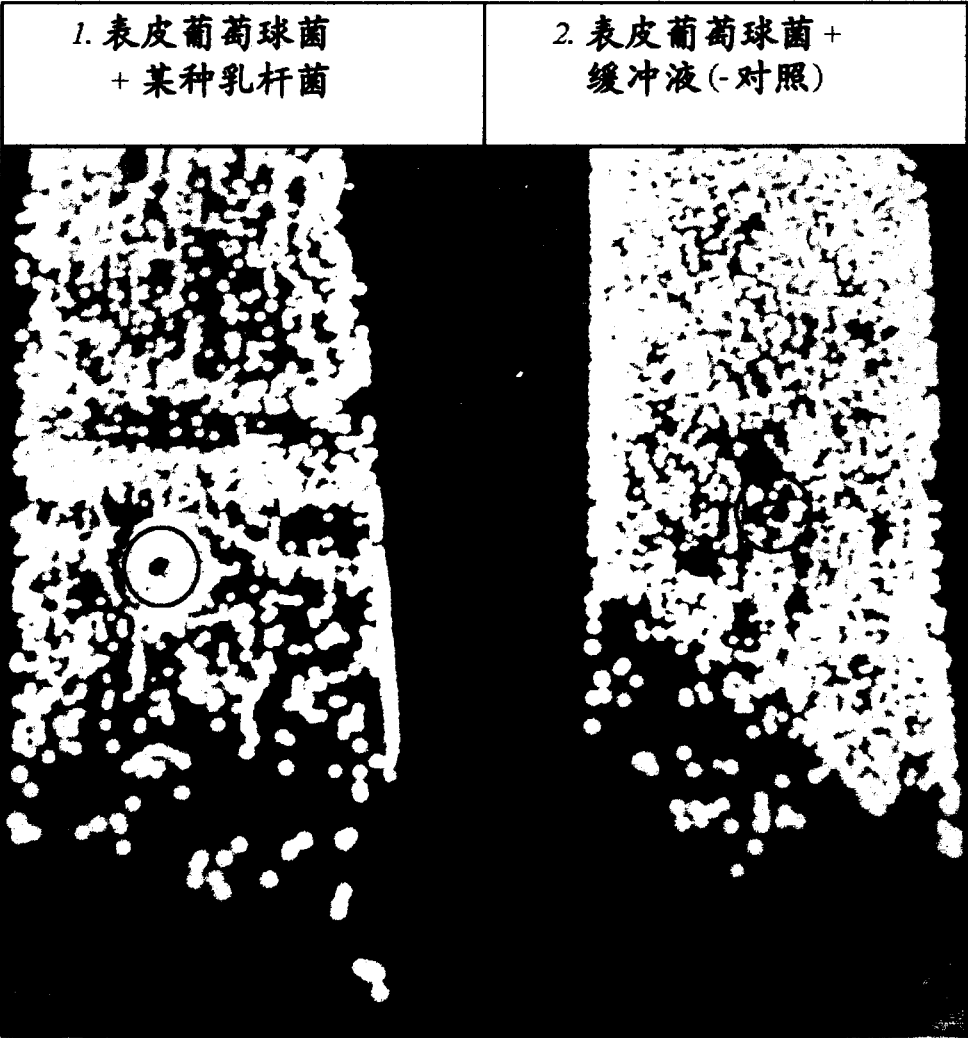


图 2

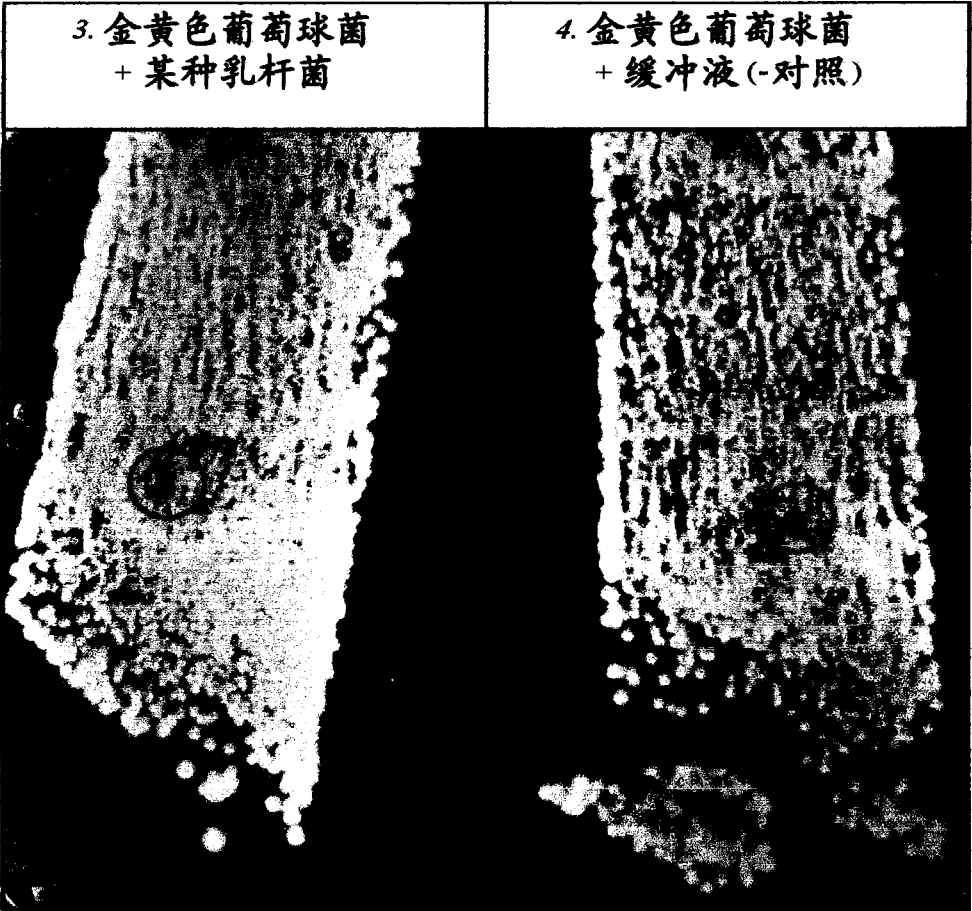


图 3

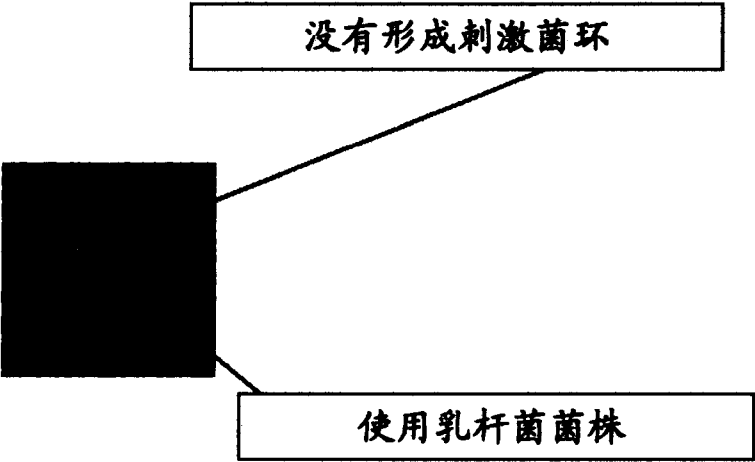


图 4

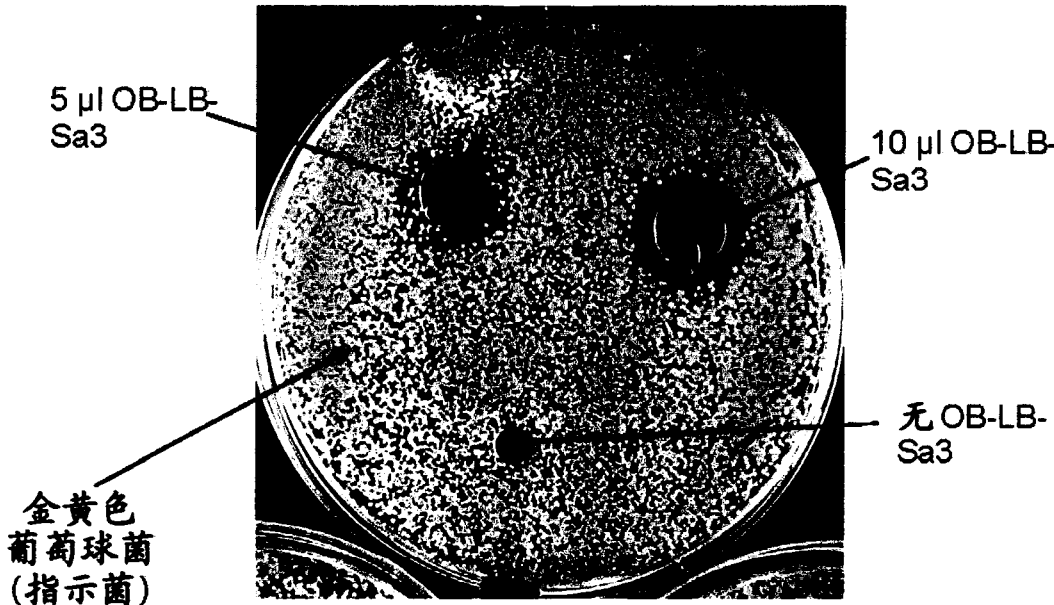


图 5

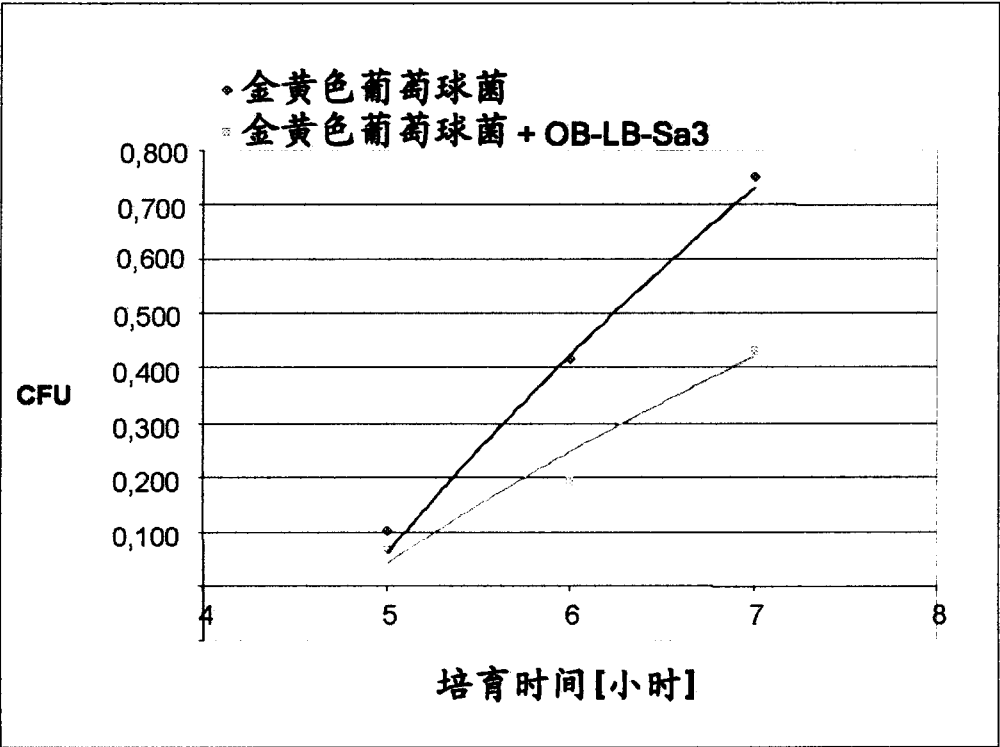


图 6

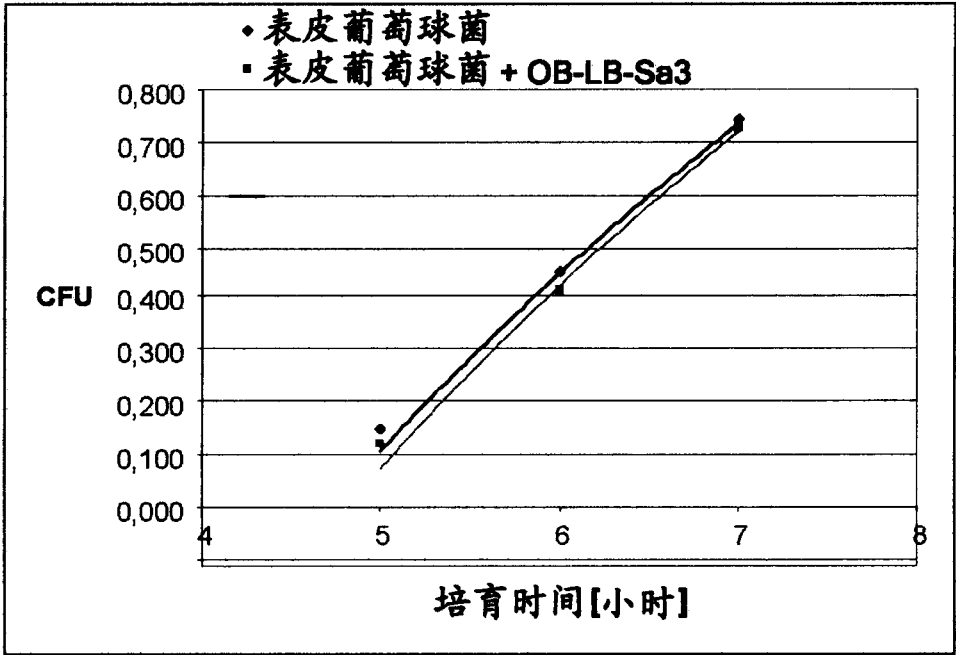


图 7

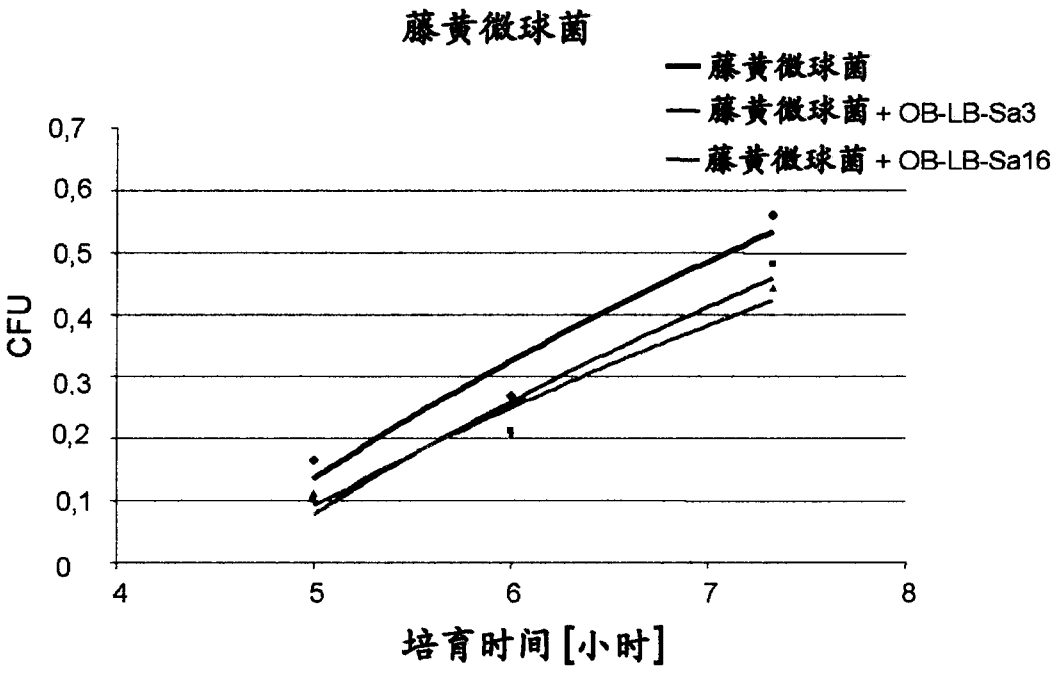


图 8

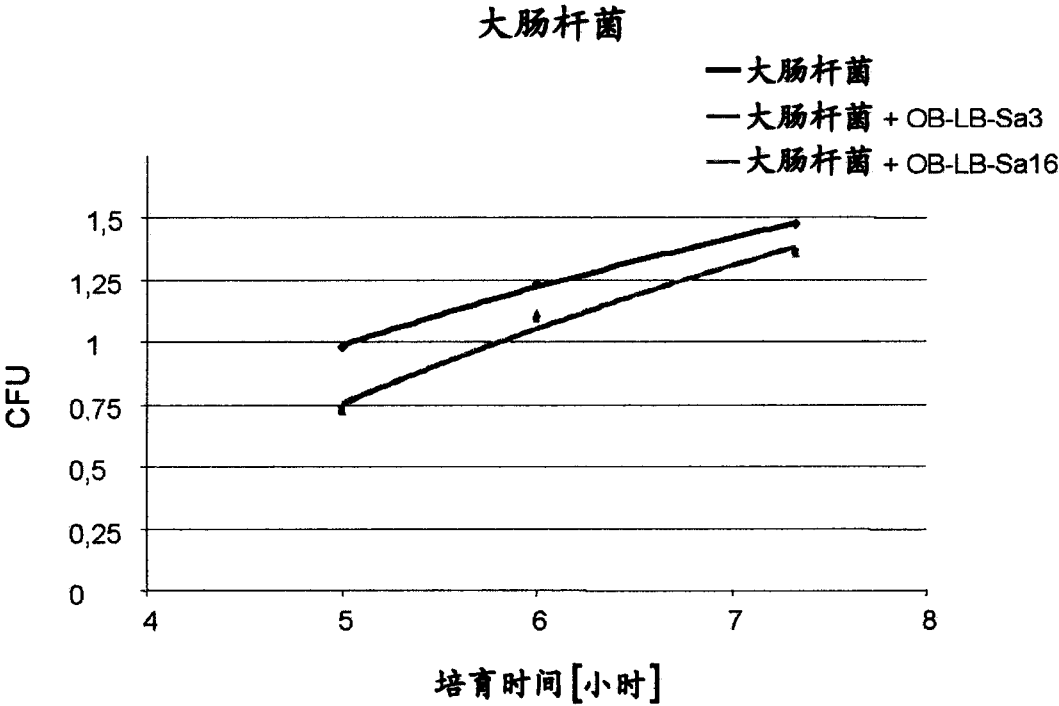


图 9

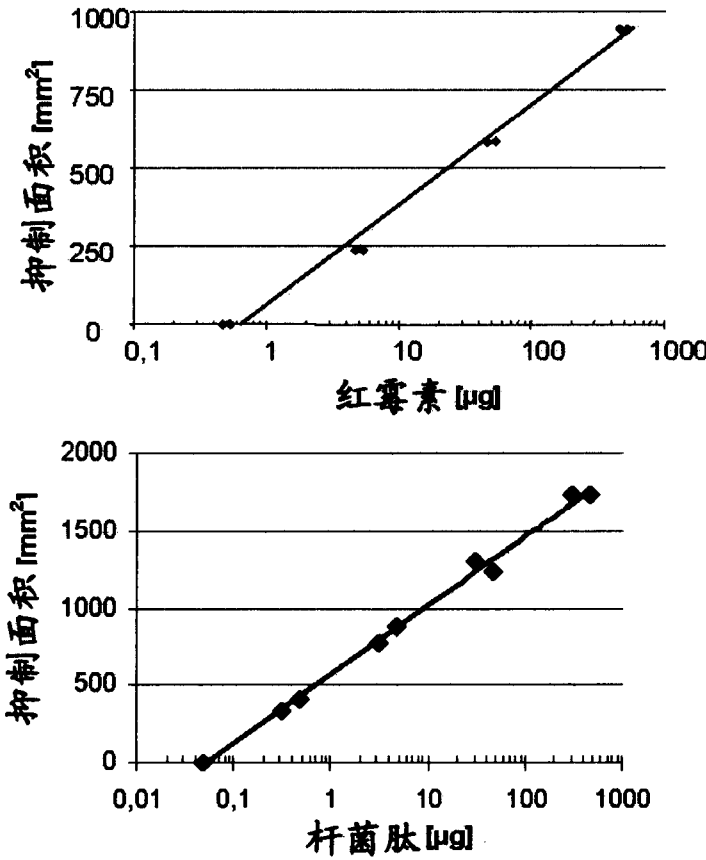


图 10 A

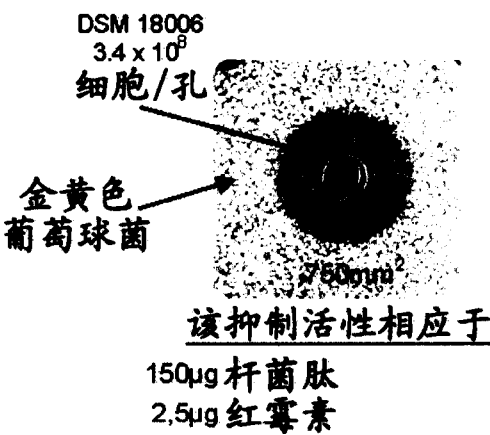


图 10 B

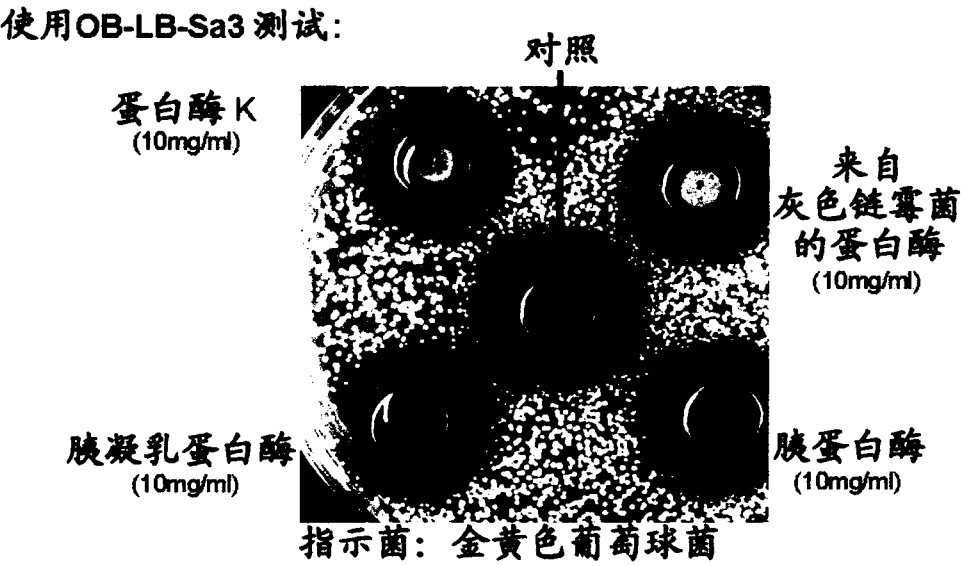


图 11

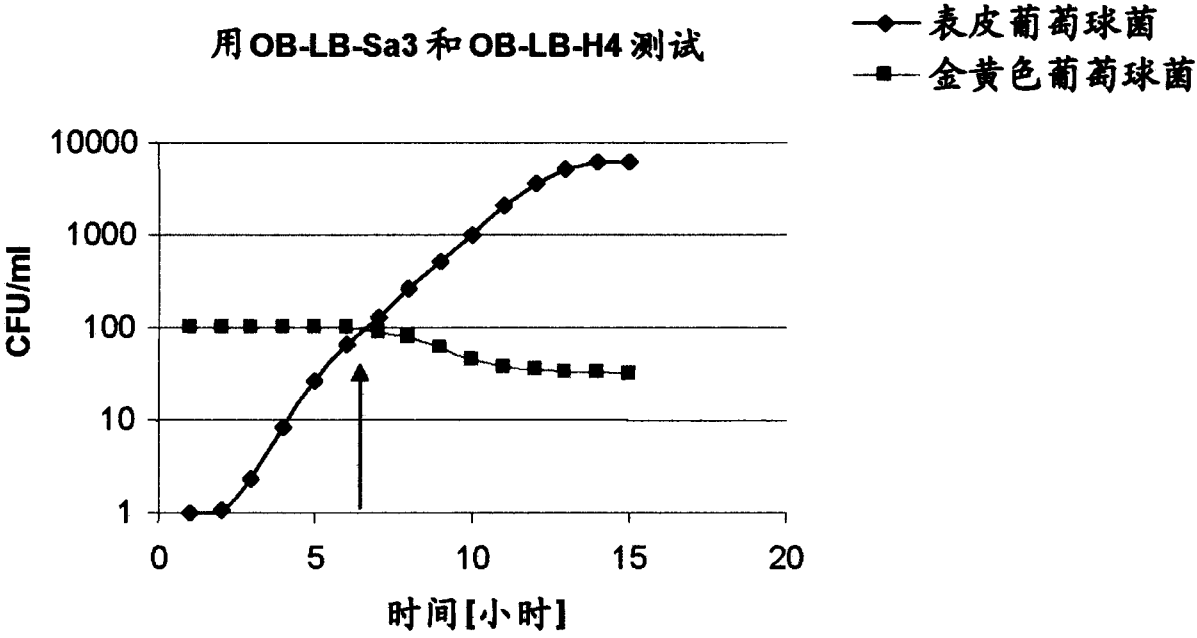


图 12