



(21) 申請案號：107130436

(22) 申請日：中華民國 107 (2018) 年 08 月 30 日

(51) Int. Cl. : C12N1/20 (2006.01) A61K8/99 (2017.01)

A61K35/74 (2015.01) A01N63/00 (2006.01)

(30) 優先權：2017/08/30 美國 62/552,182

(71) 申請人：美商微辰生命有限公司 (美國) AOBIOIME LLC (US)

美國

(72) 發明人：庫格 拓德 KRUEGER, TODD (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：92 項 圖式數：0 共 67 頁

(54) 名稱

用於有害生物之防治之氨氧化微生物

AMMONIA OXIDIZING MICROORGANISMS FOR USE IN PEST CONTROL

(57) 摘要

本文提供一種在目標位點提供有害生物防治之方法。該方法包含鄰近於該目標位點投與有效量之包含氨氧化微生物之製劑，藉此在該目標位點提供有害生物防治。本發明亦提供相關製劑、套組及裝置。

A method of providing pest control at a target site is provided. The method comprises administering an effective amount of a preparation comprising ammonia oxidizing microorganisms proximate the target site, thereby providing pest control at the target site. Related preparations, kits, and devices are also provided.

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

用於有害生物之防治之氨氧化微生物

### 【英文發明名稱】

AMMONIA OXIDIZING MICROORGANISMS FOR USE IN PEST CONTROL

### 【技術領域】

【0001】 本發明態樣大體上係關於微生物群落，且更特定言之，係關於與微生物群落相關之氨氧化微生物的修復。

### 【先前技術】

【0002】 細菌及其他微生物普遍存在於環境中。病原菌之發現及疾病之菌源說對健康及疾病狀態具有極大影響。微生物為所有活生物之環境的正常部分且可為有益的。舉例而言，在腸道中，細菌在正常條件下不為病原性的，且事實上藉由使得正常腸內容物對引起疾病之生物體不太友好而改善健康。

【0003】 有害生物防治大體上係關於調節可引起損害或具有其他有害影響之非所要物種。各種習知有害生物管理技術涉及機械或化學途徑。

### 【發明內容】

【0004】 根據一或多個態樣，揭示一種在目標位點提供有害生物防治之方法。該方法可包含鄰近於目標位點投與有效量之包含氨氧化微生物(AOM)之製劑，藉此在目標位點提供有害生物防治。

【0005】 在一些態樣中，有害生物防治與目標位點之昆蟲、蟎、植物、嚙齒動物、動物或鳥類之防治有關。提供有害生物防治包含減少或抑

制至少一種有害生物品種在目標位點之存在。在至少一些態樣中，提供有害生物防治可降低滋擾、疾病、農業損害、生態損害或結構損害在目標位點之發生率。目標位點在投與之前可具有輕度有害生物滲入。目標位點在投與之前可具有中度或重度有害生物滲入。目標位點可與家庭或作物有害生物有關。目標位點可易於受有害生物滲入及/或具有有害生物滲入歷史。

**【0006】** 在一些態樣中，製劑可在有害生物滲入之前投與。在其他態樣中，製劑可在有害生物滲入發生期間投與。製劑可在有害生物滲入減除之後投與。製劑可回應於有害生物症狀、觸發或警告信號，例如環境因素而投與。該方法可進一步包含判定目標位點是否需要有害生物防治。

**【0007】** 在一些態樣中，目標位點可與人類個體或動物個體有關。有害生物防治可與臭蟲、蟑螂、白蟻、螞蟻、嚙齒動物、蒼蠅、蚊子或跳蚤相關。在至少一些態樣中，該製劑可向人類個體或動物個體投與。該製劑可在個體清潔或淋浴之前30、60、90、120、150或180分鐘投與。該方法可進一步包含鄰近目標位點投與第二量之製劑。該製劑可局部投與。該製劑可投與至個體之身體，例如至個體之臉部、頸部、頭皮、肢體、手部、足部、背部、腕部、軀幹、生殖器、會陰、腹部及胸部中之一或多者。在一些態樣中，該製劑可經鼻內投與。在其他態樣中，製劑可經由吸入投與。該製劑可以噴霧劑、氣溶膠或霧化劑形式投與。

**【0008】** 在一些態樣中，該製劑可作為組合治療之部分投與。該方法可進一步包含與製劑組合投與第二治療。該製劑可在起始第二治療之前投與一段時間。該製劑可與第二治療同時投與。該製劑可在停止第二治療之後投與一段時間。該製劑可與機械、物理、耕種、化學、生物或檢疫措

施組合投與。該製劑可與殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、滅鼠劑、滅鳥劑或殺細菌劑組合投與。在至少一些態樣中，該製劑可與亞硝酸鹽、硝酸鹽及/或例如吸入NO之NO結合投與。第二治療可經口、皮下、靜脈內或肌肉內投與。該個體可具有治療性水準之第二治療。

**【0009】** 在一些態樣中，該有效量可為AOM之治療有效劑量。AOM之治療有效劑量可為約或大於約 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{11}$ 、 $1 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{13}$ 或 $1 \times 10^{14}$  CFU。該製劑可作為鎮痛劑投與。該製劑可作為預防劑投與。該製劑可自投與。在至少一些態樣中，該個體可具有過敏或感染。

**【0010】** 在一些態樣中，該製劑可每天投與約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24次。該製劑可投與約1-3、3-5、5-7、7-9、5-10、10-14、12-18、12-21、21-28、28-35、35-42、42-49、49-56、46-63、63-70、70-77、77-84或84-91天。在一些態樣中，該個體為女性。在其他態樣中，該個體為男性。該個體特徵可為以下種族/人種中之一者：亞洲人、黑人或非裔美國人、西班牙裔或拉丁裔、白人或多種族。該個體可為動物個體。該個體特徵可為脊椎動物或哺乳動物。該個體特徵可為非人類靈長類動物、家養動物、農業上有用之動物或研究用動物。該個體特徵可為農業上有用之動物，例如綿羊、狗、貓、牛、豬、馬或山羊。該個體特徵可為研究用動物，例如小鼠、大鼠、家兔、狗、貓或豬。該個體之年齡可小於1歲，或在1-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60歲之間，或超過60歲。該製劑可在室外活動之前或之後向個體投與。

**【0011】** 在一些態樣中，該製劑可包含含AOM之緩衝溶液，例如緩

衝水溶液。該緩衝溶液，例如緩衝水溶液包含磷酸二鈉及氯化鎂，例如50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 及2 mM  $\text{MgCl}_2$ 之水溶液。該緩衝溶液，例如緩衝水溶液本質上由磷酸二鈉及氯化鎂，例如50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 及2 mM  $\text{MgCl}_2$ 之水溶液組成。該緩衝溶液，例如緩衝水溶液由磷酸二鈉及氯化鎂，例如50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 及2 mM  $\text{MgCl}_2$ 之水溶液組成。該製劑可包含氨、銨鹽及脲中之至少一者。該製劑可包含控制釋放物質，例如緩慢釋放物質。該製劑可進一步包含賦形劑，例如醫藥學上可接受之賦形劑。該賦形劑可為界面活性劑。該賦形劑可包含抗黏劑、黏合劑、包衣、崩解劑、填充劑、調味劑、著色劑、潤滑劑、助流劑、吸附劑、防腐劑、螯合劑或甜味劑。該製劑可基本上不含其他生物體。在一些態樣中，該製劑可提供為液體、液滴、粉末、固體、乳膏、洗劑、凝膠、棒狀物、氣溶膠、噴霧劑、霧化劑、油膏、擦拭物或繃帶。該製劑可包含保濕劑、除臭劑、香味劑、著色劑、驅蟲劑、清潔劑或UV阻斷劑。

**【0012】** 在一些態樣中，該製劑可包含約 $1 \times 10^3$  CFU/mL至約 $1 \times 10^{14}$  CFU/mL之間的AOM。該製劑可包含約 $1 \times 10^9$  CFU/mL至約 $10 \times 10^9$  CFU/mL之間的AOM。該AOM可包含氨氧化細菌(AOB)。該AOM本質上可由AOB組成。該AOM可由AOB組成。該AOM可包含亞硝化單胞菌屬(*Nitrosomonas*)、亞硝化球菌屬(*Nitrosococcus*)、亞硝化螺菌屬(*Nitrospira*)、亞硝化囊菌屬(*Nitrosocystis*)、亞硝化葉菌屬(*Nitrosolobus*)、亞硝化弧菌屬(*Nitrosovibrio*)及其組合。該AOM可為富養亞硝化單胞菌(*Nitrosomonas eutropha*; *N. eutropha*)。在至少一些態樣中，AOM可為具有ATCC寄存編號PTA-121157之富養亞硝化單胞菌D23。在其他態樣中，該AOM可包含氨氧化古菌(AOA)。在一些態樣

中，該AOM可能能夠以至少約1 pmol/min/mg蛋白質，例如至少約0.1 nmol/min/mg蛋白質之速率將氨或銨轉化成亞硝酸鹽。

**【0013】** 在一些態樣中，提供有害生物防治可包含自個體或目標位點驅除至少一種有害生物。個體或目標位點可在投與之後約24小時內自有有害生物滲入恢復。在一些態樣中，目標百分比之所投與AOM傳遞至個體或目標位點。該製劑可與消炎劑結合投與。該製劑可與習知，例如批准之有害生物防治途徑結合投與。個體或目標位點可具有經破壞之微生物群落。該製劑可進一步包含促進AOM生長或代謝、NO產生及/或脲酶活性之化合物或與該化合物同時投與。在至少一些態樣中，生物群落友好產品可與包含AOM之投與製劑結合使用。

**【0014】** 在一些態樣中，投與有效量之製劑可改變或更改個體或目標位點，例如目標組織處或循環中之亞硝酸鹽或NO之含量。投與有效量之製劑可調節與個體或目標位點相關之微生物群落。

**【0015】** 在一些態樣中，揭示一種包含AOM之用於有害生物防治之製劑。該製劑可經包裝用於單次使用。該製劑可以其他方式經包裝用於多次使用。該製劑可包含AOM及其他生物體，例如生物體群落。

**【0016】** 在一些態樣中，揭示一種用於向目標位點投與包含AOM之製劑以用於有害生物防治的裝置。該裝置可包含經製劑預處理之衣物或配件。舉例而言，該裝置可包含以供人類個體使用之衣物或配件，例如襯衫、褲子、裙子、夾克、鞋襪、頭飾、內衣、手環、項鍊、手錶或耳環。該裝置可包含以供動物個體使用之衣物或配件，例如襯衫、頸圈、馬具、皮帶繩、馬鞍座氈或馬鞍。

**【0017】** 在一些態樣中，揭示一種包含含有AOM之製劑以用於有害

生物防治的套組。

**【0018】** 本發明涵蓋前述態樣及/或實施例中之任何一或多者之全部組合，以及與實施方式中所列之實施例及任何實施例中之任何一或多者之組合。

**【實施方式】**

**【0019】**

### 相關申請案之交叉參考

本申請案主張2017年8月30日申請之標題為「AMMONIA OXIDIZING MICROORGANISMS FOR USE IN PEST CONTROL」之美國臨時專利申請案第62/552,182號之優先權益，其全部揭示內容在此以全文引用之方式併入本文中以用於所有目的。

**【0020】** 根據一或多個實施例，本發明提供將氨氧化微生物引入個體之各種方法或模式。此等方法或模式包含向個體投與氨氧化微生物，例如包含氨氧化微生物之製劑、組合物、調配物或產品。在至少一些實施例中，氨氧化微生物可因此一般復原成個體之微生物群落。在至少一些實施例中，氨氧化微生物可包含活氨氧化微生物或本質上由活氨氧化微生物組成。

**【0021】** 本發明揭示包含氨氧化微生物、本質上由氨氧化微生物組成或由氨氧化微生物組成之製劑、組合物及/或調配物，例如包括美容產品、治療產品、消費產品、非天然產品、天然產品及強化天然產品。本文所揭示之此等製劑、組合物及/或調配物用於各種應用，例如美容及/或治療應用。製劑、組合物及/或調配物可以有效量投與以用於預期用途，例如美容或治療應用。提供用於以各種投與模式向個體投與的包含氨氧化微

生物之製劑、組合物及/或調配物。提供用於治療個體之各種病況及/或病症的包含氨氧化微生物之製劑、組合物及/或調配物。揭示經由投與氨氧化微生物治療個體之各種病況及/或病症之方法。亦提供用於向個體投與氨氧化微生物之裝置。

## 【0022】

### 微生物學

根據一或多個實施例，基本上可使用或實施任何氨氧化微生物(AOM)。氨氧化微生物一般可為自養的。氨氧化微生物可自氨產生亞硝酸鹽及/或氧化氮。

【0023】自養氨氧化細菌(AOB)之特性例如由Whitlock充分描述於美國專利第7,820,420號中。因為該文檔，已使氧化氮以用於ATP產生的自養微生物之類別擴展以涵蓋氨氧化古菌(AOA)，且已將古菌自細菌之類別去除且加入其自身獨特類別。出於本發明之目的，可實施共有氨氧化以產生ATP之特性的任何及所有自養氨氧化微生物。AOM，包括AOB及AOA兩者，共有將氨氧化成NO及亞硝酸鹽之必要特性且所有已知AOM均無毒力，因為其不能使用有機受質來產生ATP。細菌可以較高濃度利用氨，而古菌可以較低濃度利用氨。氨之生理含量在細菌(AOB)及古菌(AOA)均可利用之範圍內。在整個本發明中對氨氧化細菌之任何具體提及應視為同樣適用於任何氨氧化微生物，例如任何氨氧化古菌，且此等術語全部可在本文中互換使用。

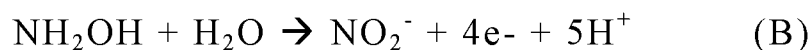
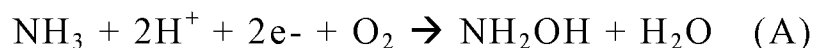
【0024】氨氧化細菌(AOB)為普遍存在的革蘭氏陰性專性細菌，具有僅自氨轉化為亞硝酸鹽以產生能量之獨特能力。在一些實施例中，亞硝化單胞菌屬之氨氧化細菌(AOB)為革蘭氏陰性專性自養(化學溶性自養)細

菌，具有僅由氨作為能量來源產生亞硝酸鹽及氧化氮之獨特能力。其廣泛存在於土壤及水環境中且為環境硝化過程之必需組分。該等細菌具有例如關於根據本文所描述之一或多個實施例的各種美容及治療用途的有益特性。不希望受任何特定理論束縛，由於亞硝酸鹽及氧化氮作為若干生理功能(諸如血管擴張、炎症及傷口癒合)之重要組分的作用，此等細菌可對於健康及免疫病理狀況均具有各種有益特性。此等細菌安全地用於人類，因為其生長緩慢、無法在有機碳源上生長、可對皂類及抗生素敏感且從未與動物或人類之任何疾病或感染相關。

**【0025】** 氮氧化微生物產生輔酶Q 8 (CoQ8)作為其產生亞硝酸鹽及氧化氮之過程的副產物。CoQ8為在其類異戊二烯側鏈中具有8個碳之輔酶Q。不希望受任何特定理論束縛，由於輔酶Q作為若干細胞功能，諸如介導細胞信號傳導及預防細胞死亡(抗老化)之重要組分的作用，此等微生物之有益特性可藉由其產生CoQ8之特定能力進一步增強。

**【0026】** 在一些實施例中，氮氧化細菌可催化以下反應。

**【0027】** 在中性pH水準下，自大約中性pH條件之銨產生之氨為初始反應之受質。氨轉化為亞硝酸鹽如下在分別由氨單加氧酶(AMO)及脛胺氧化還原酶(HAO)催化之兩個步驟中發生：



**【0028】** 在一些情況下，反應B報導如下，以指示低pH下之亞硝酸(HNO<sub>2</sub>)形成：



**【0029】** 在某些實施例中，NH<sub>4</sub><sup>+</sup>及NH<sub>3</sub>在整個本發明中可互換使

用。

【0030】 氮氧化細菌之實例包括富養亞硝化單胞菌菌株，例如如本文所論述之D23及C91，及亞硝酸菌屬、亞硝化球菌屬、亞硝化螺菌屬、亞硝化囊菌屬、亞硝化葉菌屬及亞硝化弧菌屬中之其他細菌。D23富養亞硝化單胞菌菌株係指稱為AOB D23-100之菌株，在2014年4月8日以寄存編號PTA-121157寄存於美國組織培養物保藏中心(ATCC) (10801 University Blvd., Manassas, VA, USA)。寄存編號PTA-121157之核酸序列(例如基因組序列)在此以全文引用的方式併入本文中以用於所有目的。「AOB D23-100」亦可在整個本發明中稱為D23或B244。

【0031】 氮氧化古菌之實例包括甲烷短桿菌屬(*Methanobrevibacter*)、甲烷球形菌屬(*Methanosphaera*)、甲烷八疊球菌屬(*Methanosarcina*)、亞硝化暖菌屬(*Nitrosocaldus*)、亞硝化侏儒菌屬(*Nitrosopumilus*)及亞硝化球菌屬(*Nitrososphaera*) (例如維也納亞硝化球菌(*Nitrososphaera viennensis*)、加爾加亞硝化球菌(*Nitrososphaera gargensis*))中之古菌。不同系統型之古菌，例如產甲烷菌及嗜鹽太古菌可包括於本文所揭示之製劑中。古菌之實例進一步包括廣古菌門(Euryarchaeota) (例如甲烷八疊球菌屬)、泉古菌門(Crenarchaeota)、曙古菌門(Aigarchaeota)及奇古菌門(Thaumarchaeota)之譜系中的古菌(例如 *Gigantothauma karukerense*、*Gigantothauma insulaporcus*、*Caldiarchaeum subterraneum*、*Cenarchaeum symbiosum*)。

【0032】 揭示於國際(PCT)專利申請公開案第WO2015/160911號(2015年4月15日申請之國際(PCT)專利申請案第PCT/US2015/025909號)中之每一核酸序列及胺基酸序列在此以全文引用的方式併入本文中以用於

所有目的。同樣，揭示於國際(PCT)專利申請公開案第WO2015/160911號(2015年4月15日申請之國際(PCT)專利申請案第PCT/US2015/025909號)中之任何氨氧化細菌亦在此以全文引用的方式併入本文中以用於所有目的。在某些實施例中，氨氧化微生物為如本文中所描述之菌株。

**【0033】** 根據一或多個實施例，氨氧化微生物可以若干代謝狀態，例如生長狀態、儲存狀態及/或多磷酸鹽負載狀態存在。

**【0034】** 根據一或多個實施例，氨氧化微生物可具有所期望的特性，例如最佳特性，諸如抑制病原菌之生長的能力，及產生氧化氮及氧化氮前驅體的增強能力。

**【0035】** 作為本文所用之術語，最佳化富養亞硝化單胞菌(*N. eutropha*)係指具有最佳化生長速率、最佳化 $\text{NH}_4^+$ 氧化速率及/或最佳化 $\text{NH}_4^+$ 抗性的富養亞硝化單胞菌。在一個實施例中，其與天然存在之富養亞硝化單胞菌之差異在於至少一個核苷酸，例如選自氨單加氧酶、羥胺氧化還原酶、細胞色素c554及細胞色素 $c_M552$ 之基因中之核苷酸。該差異可例如經由選擇富養亞硝化單胞菌之自發產生突變、誘發突變或定向基因工程改造而產生。在一個實施例中，其與天然存在之富養亞硝化單胞菌之差異在於其具有在自然界中不存在於一起的一群對偶基因。此等差異可提供疾病或病況之治療或預防中之一或多者，諸如(但不限於)與低亞硝酸鹽含量相關之疾病或病況。

**【0036】** 任何氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌，例如稱為「D23」、亦稱為「B244」或「AOB D23-100」之富養亞硝化單胞菌可具有若干上文所描述特性。任何氨氧化古菌(AOA)亦可具有若干上文所描述特性。

**【0037】** 本發明中涵蓋之AOB可包含相對於野生型AOB之突變。此等突變可例如自發地出現、藉由隨機突變誘發引入或藉由定向突變誘發引入。舉例而言，AOB可缺乏一或多個野生型AOB通常包含之基因或調節DNA序列。AOB亦可包含相對於定序菌株或野生型菌株之點突變、取代、插入、缺失及/或重排。AOB可為最佳化AOB的純化製劑。

**【0038】** 在某些實施例中，AOB為轉殖基因的。舉例而言，其可包含一或多個野生型氨氧化細菌缺乏之基因或調節DNA序列。更特定言之，氨氧化細菌可包含例如報導基因、選擇性標記物、編碼酶之基因或啟動子(包括誘導型或阻抑型啟動子)。在一些實施例中，額外基因或調節DNA序列整合至細菌染色體中；在一些實施例中，額外基因或調節DNA序列位於質體上。

**【0039】** 在一些實施例中，AOB與天然存在之細菌的差異在於至少一個核苷酸。舉例而言，AOB與天然存在之細菌之差異可在於一基因或蛋白質，其為相關路徑，例如氨代謝路徑、脲代謝路徑或用於產生氧化氮或氧化氮前驅體之路徑的一部分。更特定言之，AOB可包含例如藉由增加路徑之要素的水準或活性而提昇該路徑之活性的突變。

**【0040】** 上文所提及之突變可使用任何適合之技術引入。已知眾多用於將突變引入既定位置之方法。舉例而言，吾人可使用定點突變誘發、寡核苷酸定向突變誘發或位點特異性突變誘發。具體突變誘發方案之非限制性實例描述於例如Mutagenesis, 第13.1-13.105頁(Sambrook及Russell編, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 第3卷, 3.增訂版 2001)中。另外，可購自商業供應商之充分表徵之突變誘發方案的非限制性實例包括(但不限於)Altered Sites.RTM. II活體外突變誘發系統(Promega Corp.,

Madison, Wis.) ; Erase-a-Base.RTM.系統(Promega, Madison, Wis.) ; GeneTailor.TM.定點突變誘發系統(Invitrogen, Inc., Carlsbad, Calif.) ; QuikChange.RTM. II定點突變誘發套組(Stratagene, La Jolla, Calif.) ; 及 Transformer.TM.定點突變誘發套組(BD-Clontech, Mountain View, Calif.) 。

【0041】 在本發明之某些實施例中，氨氧化微生物可為無菌的。氨氧化微生物之製劑(調配物或組合物)可包含無菌氨氧化微生物、本質上由其組成或由其組成。

【0042】 本發明之氨氧化細菌可來自選自由以下組成之群的屬：亞硝化單胞菌屬、亞硝化球菌屬、亞硝化螺菌屬、亞硝化囊菌屬、亞硝化葉菌屬、亞硝化弧菌屬及其組合。

【0043】 本發明尤其提供富養亞硝化單胞菌菌株D23，一種可增加個體(例如人類個體)表面上之氧化氮及氧化氮前驅體產生之氨氧化細菌之獨特(例如最佳化)菌株。本發明亦提供投與及使用細菌以及包含細菌之製劑、組合物、調配物及產品之方法。

【0044】 在實施例中，氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌為非天然存在的。舉例而言，其可在選擇時段期間累積所期望突變。在其他實施例中，所期望突變可由實驗者引入。在一些實施例中，富養亞硝化單胞菌可為純化製劑，且可為最佳化富養亞硝化單胞菌。

【0045】 在較佳實施例中，富養亞硝化單胞菌菌株為自養的且因此不能引起感染。較佳菌株利用脲以及氨，以使得在由細菌吸收及利用之前不需要水解汗液中之脲。此外，為了在低pH下生長，細菌可吸收 $\text{NH}_4^+$ 離子或脲。所選菌株亦應能夠在個體(例如人類)之外部皮膚上存活，且耐受

彼處之條件。

**【0046】** 儘管本發明詳細地提及富養亞硝化單胞菌菌株D23，但製劑、方法、組合物、治療、調配物及產品可在以下中之一或多者之情況下使用：富養亞硝化單胞菌之一或多個其他菌株、亞硝化單胞菌屬之一或多個其他物種及一或多種其他氨氧化微生物，例如氨氧化細菌或其他氨氧化古菌。

**【0047】** 在某些實施例中，具有上文所提及之序列特徵之細菌具有以下中之一或多者：(1)如藉由倍增時間所量測之最佳化生長速率，(2)如藉由OD600所量測之最佳化生長速率，(3)最佳化 $\text{NH}_4^+$ 氧化速率，(4)最佳化 $\text{NH}_4^+$ 抗性，及(5)最佳化 $\text{NO}_2^-$ 抗性。此等特性之特定非限制性子組合說明於以下段落中。

**【0048】** 在一些實施例中，本文所描述之氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌或其無菌組合物具有以下中之一或多者：(1)如藉由倍增時間所量測之最佳化生長速率，(2)如藉由OD600所量測之最佳化生長速率，(3)最佳化 $\text{NH}_4^+$ 氧化速率，(4)最佳化 $\text{NH}_4^+$ 抗性，及(5)最佳化 $\text{NO}_2^-$ 抗性。舉例而言，細菌可具有來自此段開頭處之清單的特性(1)及(2)；(2)及(3)；(3)及(4)；或(4)及(5)。作為另一實例，細菌可具有來自此段開頭處之清單的特性(1)、(2)及(3)；(1)、(2)及(4)；(1)、(2)及(5)；(1)、(3)及(4)；(1)、(3)及(5)；(1)、(4)及(5)；(2)、(3)及(4)；(2)、(3)及(5)；或(3)、(4)及(5)。作為另一實例，細菌可具有來自此段開頭處之清單的特性(1)、(2)、(3)及(4)；(1)、(2)、(3)及(5)；(1)、(2)、(4)及(5)；(1)、(3)、(4)及(5)；或(2)、(3)、(4)及(5)。在一些實施例中，細菌具有來自此段開頭處之清單的特性(1)、(2)、(3)、(4)及(5)。

【0049】 在某些實施例中，富養亞硝化單胞菌菌株包含在低嚴格度、中等嚴格度、高嚴格度或極高嚴格度或其他雜合條件下雜合至國際(PCT)專利申請公開案第WO2015160911號(2015年4月15日申請之國際(PCT)專利申請案第PCT/US2015/025909號)之SEQ ID NO: 1或雜合至被稱為AOB D23-100之於2014年4月8日以寄存編號PTA-121157呈25個小瓶形式寄存於ATCC專利儲藏所的D23菌株之基因組或其互補序列的核酸序列，例如基因組。

【0050】 不認為D23菌株為天然產物，而是在實驗室中長時間培養及選擇期間已獲得某些突變及特徵。舉例而言，D23能夠在大於約200或250 mM  $\text{NH}_4^+$ 之條件下生長超過24小時。

【0051】 在一些實施例中，本文所揭示之富養亞硝化單胞菌與天然存在之細菌的差異在於噬鐵素豐度。舉例而言，富養亞硝化單胞菌可具有相較於富養亞硝化單胞菌C91升高或降低之噬鐵素含量。一般而言，噬鐵素為幫助細菌自其環境清除鐵的分泌之鐵螯合化合物。一些噬鐵素為肽，而其他噬鐵素為有機小分子。

【0052】 除非另有指示，否則本發明之實踐可採用本領域技術內之免疫學、分子生物學及重組DNA技術之習知方法。該等技術在文獻中經充分解釋。參見例如Sambrook等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (當前版本)；及*Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel等人編，當前版本)。

### 【0053】

#### 選擇定義

氨氧化微生物，例如氨氧化細菌，係指能夠以一定速率(例如相當大

之速率、例如預定速率)將氨或銨氧化成亞硝酸鹽之微生物。該速率(例如預定速率)係指例如在活體外分析中或向個體(例如人類)投與時所測定或量測之銨離子( $\text{NH}_4^+$ ) (例如，約200 mM)轉化至亞硝酸鹽( $\text{NO}_2^-$ )之速率。該速率可為以下轉化速率：至少約1 pmol/min/mg用於連續培養基(例如具有約0.5之OD)的蛋白質，0.01、0.1、1、10、25、50、75、125或150 nmol  $\text{NO}_2^-$ /min/mg蛋白質，例如約0.01-1、0.1-50、50-100、100-150、75-175、75-125、100-125、125-150或125-175 nmol/min/mg蛋白質，例如約125 nmol  $\text{NO}_2^-$ /min/mg蛋白質。轉化速率可在約1 pmol/min/mg蛋白質至約1 mmol/min/mg蛋白質之間。轉化速率可為至多約1 mol  $\text{NO}_2^-$ /min/mg蛋白質，例如至少約、約或至多約1 dmol、1 cmol、1 mmol或1  $\mu\text{mol}$   $\text{NO}_2^-$ /min/mg蛋白質。

**【0054】** 如本文所用，「無菌」係指包含生物體之組合物基本上不含其他生物體。舉例而言，氨氧化細菌之無菌培養物為基本上不含除氨氧化細菌以外之生物體的培養物。舉例而言，富養亞硝化單胞菌之無菌培養物為基本上不含除富養亞硝化單胞菌以外之生物體的培養物。在一些實施例中，「基本上不含」表示藉由用於偵測其他生物體之方法(例如平鋪培養物及檢查菌落形態或用於諸如16S RNA之保守基因的PCR)無法偵測。無菌組合物可包含不為生物體之要素，例如其可包含營養素或賦形劑。本文所論述之氨氧化細菌之任何實施例、製劑、組合物或調配物可包含視情況無菌之氨氧化細菌、基本上由其組成或由其組成。

**【0055】** 在整個本發明中，調配物係指組合物或製劑或產品。

**【0056】** 如本文所用，「自養生物」，例如自養細菌為能夠藉由使用無機物質作為營養素來源及使用光合作用或化合作用作為能量來源而自我

滋養的任何生物體。自養細菌可自二氧化碳及源自其他來源之ATP合成有機化合物，將氨氧化為亞硝酸鹽，氧化硫化氫，及將 $\text{Fe}^{2+}$ 氧化為 $\text{Fe}^{3+}$ 。本發明之自養細菌不能引起感染。

**【0057】** 如本文所用，「組合」投與意謂在個體罹患病症之過程中向個體遞送兩種(或更多種)不同治療，例如在個體已診斷患有病症之後及在病症已治癒或消除之前遞送兩種或更多種治療。在一些實施例中，一種治療之遞送在開始第二治療之遞送時仍存在，以致存在重疊。有時在本文中將此稱為「同步」或「伴隨」或「同時遞送」。在其他實施例中，一種治療之遞送在另一治療之遞送開始之前結束。有時在本文中將此稱為「連續」或「依序遞送」。在任一情況之實施例中，治療由於組合投與而更有效。舉例而言，與在無第一治療存在下投與第二治療所將發現相比，第二治療變得更加有效，例如發現較少第二治療具有等效效應或第二治療更大程度地減輕症狀；或關於第一治療發現類似情況。在一些實施例中，遞送使得症狀減輕，或與病症相關之其他參數大於在無另一治療存在下遞送一種治療所將觀測到的參數。兩種治療之效應可部分累加、完全累加或大於累加(亦即協同)。傳遞可使得所遞送之第一治療之效應在遞送第二治療時仍可偵測。在一些實施例中，一或多種治療可在診斷患者患有病症之前遞送。

**【0058】** 如本文所用，術語「經分離」係指物質係自其初始或原生環境去除(例如，若其為天然存在的，則自其天然環境去除)。舉例而言，存在於活動物中之天然存在之聚核苷酸或多肽未經分離，但藉由人工干預而與天然系統中之一些或所有共存物質分離的相同聚核苷酸或多肽經分離。該等聚核苷酸可為載體之一部分及/或該等聚核苷酸或多肽可為組合

物之一部分，且仍經分離以使得該載體或組合物不為自然界中發現其之環境之一部分。

**【0059】** 如本文所用，術語「最佳化生長速率」係指以下中之一或多者：當在如本文實例2中所描述之分批條件下培養時，倍增時間小於約4、5、6、7、8、9或10小時；當在如本文實例2中所描述之恆化器條件下生長時，倍增時間小於約16、18、20、22、24或26小時；或經約1或2天，OD600自約0.15增長至至少約0.3、0.4、0.5、0.6、0.7或0.8。在一實施例中，最佳化生長速率為倍增時間比天然存在之富養亞硝化單胞菌短至少10%、20%、30%、40%、50%之生長速率。

**【0060】** 如本文所用，「最佳化 $\text{NH}_4^+$ 氧化速率」係指將 $\text{NH}_3$ 或 $\text{NH}_4^+$ 轉化為 $\text{NO}_2^-$ 的至少約50、75、125或150  $\mu\text{mol}/\text{min}$ 的速率。舉例而言， $\text{NH}_4^+$  (例如約200 mM)轉化為 $\text{NO}_2^-$ 之速率可為至少約50、75、125或150  $\mu\text{mol}/\text{min}$ 。在一實施例中，最佳化 $\text{NH}_4^+$ 氧化速率為比關於天然存在之富養亞硝化單胞菌所發現快至少10%、20%、30%、40%或50%的 $\text{NH}_3$ 或 $\text{NH}_4^+$ 轉化為 $\text{NO}_2^-$ 之速率。

**【0061】** 如本文所用，「最佳化 $\text{NH}_4^+$ 抗性」係指能夠在大於50、75、100、125、150、175、200、225、250、275或300 mM  $\text{NH}_3$ 或 $\text{NH}_4^+$ 之條件下生長至少約24或48小時。在一實施例中，最佳化 $\text{NH}_4^+$ 抗性係指在所選濃度之 $\text{NH}_3$ 或 $\text{NH}_4^+$ 之存在下生長比天然存在之富養亞硝化單胞菌快至少10%、20%、30%、40%或50%或久至少10%、20%、30%、40%或50%的能力。

**【0062】** 如本文所用，「轉殖基因」意謂包含DNA之一或多個外源部分。外源DNA來源於另一生物體，例如另一細菌、噬菌體、動物或植

物。

**【0063】** 如本文所用，治療疾病或病況係指相較於類似但未治療之患者，降低該疾病或病況之至少一種症狀的嚴重度或頻率。治療亦可係指相較於類似但未治療之患者，停止、減緩或逆轉疾病或病況之進展。治療可包含解決疾病及/或一或多種症狀之根本原因。

**【0064】** 如本文所用，治療有效量係指足以預防疾病或病況進展，或造成疾病或病況消退，或能夠緩解疾病或病況之症狀，或能夠實現所需結果之劑量。治療有效劑量可例如以細菌數目或活細菌數目(例如以CFU計)或細菌質量(例如以毫克、公克或公斤計)或細菌體積(例如以 $\text{mm}^3$ 計)測量。

**【0065】** 如本文所用，術語「活力」係指自養細菌，例如氨氧化細菌以預定速率將氨、銨或脲氧化為亞硝酸鹽之能力。在一些實施例中，速率係指以至少約1 pmol、0.01、0.1、1、10、25、50、75、125、或150 nmol  $\text{NO}_2^-/\text{min}$ ，例如約0.01-1、0.1-50、50-100、100-150、75-175、75-125、100-125、125-150、或125-175 nmol/min，例如約125 nmol  $\text{NO}_2^-/\text{min}$ 之速率將銨離子( $\text{NH}_4^+$ )(例如約200 mM)轉化為亞硝酸鹽( $\text{NO}_2^-$ )。轉化速率可為至多約1 mol  $\text{NO}_2^-/\text{min}$ ，例如至少約、約或至多約1 dmol、1 cmol、1 mmol或1  $\mu\text{mol}$   $\text{NO}_2^-/\text{min}$ 。活氨氧化微生物一般包含可培養的AOM或能夠以其他方式產生NO、硝酸鹽或亞硝酸鹽的AOM。

**【0066】** 如本文所用，「個體」可包括動物、哺乳動物、人類、非人類動物、家畜動物或伴侶動物。術語「個體」意欲包括人類及非人類動物，例如脊椎動物、大型動物及靈長類動物。在某些實施例中，個體為哺乳動物個體，且在特定實施例中，個體為人類個體。儘管清楚地預見關於

人類之應用，但本文中亦設想獸醫學應用，例如對於非人類動物。本發明之術語「非人類動物」包括所有脊椎動物，例如非哺乳動物(諸如禽類，例如雞；兩棲動物；爬行動物)及哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、家養動物及農業上有用的動物，例如尤其為綿羊、狗、貓、牛、豬、馬、山羊。術語「非人類動物」包括研究用動物，例如尤其為小鼠、大鼠、家兔、狗、貓、豬。

**【0067】** 「微生物群落」係指例如一或多種微生物之群體，該等微生物存活於個體之表面上，例如在個體之腸道、口腔、皮膚中及/或別處。該微生物群體具有與支持個體生命有關之一或多種有益功能及/或益處。

**【0068】** 「生物群落友好」係指可使得對個體之微生物群落之破壞最少的某物，例如產品，例如美容產品，例如成品美容產品。舉例而言，生物群落友好係指施用於個體之產品可使得微生物群落在施用點處得以維持、破壞最少及/或能夠在產品施用後一段時間之後恢復至微生物群落。在實施例中，生物群落友好係指氨氧化微生物友好，例如氨氧化細菌友好，因為產品可使得對個體之氨氧化細菌的破壞最少。在實施例中，「生物群落友好」可稱為「生物群落相容」。

**【0069】** 「天然產品」為或可包含至少部分衍生自自然之產品。其可為或包含由活生物體產生之任何東西，且可包含生物體本身。天然產品可包括或包含整個生物體，及生物體之一部分(例如植物之葉)、來自生物體之提取物、來自生物體之有機化合物、來自生物體之經純化之有機化合物。天然產品可為或包含發現之有機物質及細胞，包括初級代謝物(胺基酸、碳水化合物及核酸)及次級代謝物(發現於有限範圍之物種中之有機化

合物，例如聚酮化合物、脂肪酸、萜類、類固醇、苯丙烷類、生物鹼、特殊胺基酸及肽、特殊碳水化合物)。天然產品可為或包含聚合有機物質，諸如纖維素、木質素及蛋白質。

**【0070】** 如本文所用，「存在」或「含量」係指一組分，例如氨氧化微生物、氨、銨離子、脲、亞硝酸鹽或氧化氮中之任一者或多者之定性或定量之量。存在或含量可包括零值或不存在組分。

**【0071】** 如本文所用，術語「界面活性劑」包括可降低兩種液體之間或液體與固體之間的表面張力或界面張力的化合物。界面活性劑可充當洗滌劑、濕潤劑、乳化劑、起泡劑及分散劑。界面活性劑可單獨或與所列之彼等或其他界面活性劑或界面活性劑類化合物組合包括以下中之一或多者：椰油醯胺基丙基甜菜鹼(ColaTeric COAB)、聚乙烯山梨糖醇酯(例如，Tween 80)、乙氧基化月桂醇(RhodaSurf 6 NAT)、月桂醇醚硫酸鈉/月桂基葡糖苷/椰油醯胺基丙基甜菜鹼(Plantapon 611 L UP)、月桂醇醚硫酸鈉(例如，RhodaPex ESB 70 NAT)、烷基多葡糖苷(例如，Plantaren 2000 N UP)、月桂醇醚硫酸鈉(Plantaren 200)、布朗博士潔膚皂(Dr. Bronner's Castile soap)、布朗博士嬰兒皂(Dr. Bronner's baby soap)、月桂基胺氧化物(ColaLux Lo)、十二烷基硫酸鈉(SDS)、聚磺酸酯烷基多葡糖苷(PolySufanate 160 P)、月桂基硫酸鈉(Stepanol-WA Extra K)及其組合。布朗博士潔膚皂及嬰兒皂包含水、有機椰子油、氫氧化鉀、有機橄欖油、有機平價大麻油、有機荷荷芭油、檸檬酸及生育酚。界面活性劑可包括月桂基葡糖苷羥丙基磺酸鈉(Suga®nate 160NC)、月桂醯胺丙基甜菜鹼(Cola®Teric LMB)；椰油醯胺丙基羥基磺基甜菜鹼(Cola®Teric CBS)；椰油兩性二乙酸二鈉(Cola®Teric CDCX-LV)；月桂基葡糖苷羥丙

基磷酸鈉(Suga®Fax D12)。界面活性劑可包括月桂醯基甲基羥乙基磺酸鈉(Iselux® LQ-CLR-SB)；甲基椰油醯基牛磺酸鈉(Pureact WS Conc.)；水(及)月桂醯基甲基羥乙基磺酸鈉(及)椰油醯胺基丙基甜菜鹼(及)椰油醯基羥乙基磺酸鈉(及)甲基油醯基牛磺酸鈉(Iselux®SFS-SB)。本發明涵蓋其他界面活性劑。

### 【0072】

#### 包含氮氧化微生物之製劑、組合物、調配物及產品

本發明尤其提供包含氮氧化微生物之組合物；包含AOM之製劑，例如經純化及/或最佳化之製劑；包含AOM之調配物；及包含AOM之各種產品，例如天然產品、非天然產品、強化天然產品、消費型產品、治療產品或美容產品。術語製劑、組合物、調配物及產品可在本文中互換使用。

【0073】 本文所論述之氮氧化微生物的任何實施例、製劑、組合物、調配物或產品可包含(視情況無菌的)氮氧化微生物，例如活氮氧化微生物，本質上由其組成或由其組成。

【0074】 製劑可包含或補充有氮氧化微生物之產物或副產物，例如亞硝酸鹽、硝酸鹽、氧化氮、CoQ8。在至少一些實施例中，製劑可包含或補充有促進氮氧化微生物之生長或代謝、促進氮氧化微生物之產物或副產物之產生、促進脲酶活性或與氮氧化微生物具有協同效應的組合物，例如氨、銨鹽、脲及脲酶。舉例而言，製劑可補充有NO、亞硝酸鹽、硝酸鹽、CoQ8、氨、銨鹽、脲及脲酶中之一或多者。補充物可與氮氧化微生物包含於相同調配物中或包含於獨立調配物中用於同時或組合投與。補充調配物可製備用於經由任何遞送模式，例如吸入形式之NO、亞硝酸鹽或硝酸鹽來遞送。製劑可尤其包含氨、銨鹽及脲中之至少一者。製劑可包含

或補充有消炎劑或提供消炎效應之組合物。

**【0075】** 本發明提供包含氮氧化微生物之製劑，其用於美容用途。

**【0076】** 本發明提供包含氮氧化微生物之製劑，其用於治療用途。

**【0077】** 在一些實施例中，氮氧化微生物之製劑可包含足以具有所需美容效應之氮氧化微生物的濃度或量，例如有效量。可調配及/或遞送製劑以局部及/或全身賦予所需美容效應。

**【0078】** 在一些實施例中，氮氧化微生物之製劑可包含足以具有所需治療效果，例如足以至少部分治療病況或疾病之氮氧化微生物的濃度或量，例如有效量。可調配及/或遞送製劑以局部及/或全身賦予所需治療效果。

**【0079】** 在一些實施例中，氮氧化微生物之製劑可包含足以更改，例如減少或增大個體中之細菌或細菌屬之量、濃度或比例之濃度或量(例如有效量)之氮氧化微生物。細菌可為非病原性或病原性的，或為潛在病原性的。

**【0080】** 在一些實施例中，氮氧化微生物之製劑可包含足以調節與個體相關之微生物群落之濃度或量(例如有效量)之氮氧化微生物。

**【0081】** 在一些實施例中，氮氧化微生物之製劑可包含足以向個體遞送NO之濃度或量(例如有效量)之氮氧化微生物。氮氧化微生物之製劑可包含一定濃度或量(例如有效量)之氮氧化微生物，使得當投與時，製劑調節、改變或更改目標組織處或循環中之亞硝酸鹽或NO之含量。舉例而言，氮氧化微生物之製劑可包含一定濃度或量(例如有效量)之氮氧化微生物，使得當投與時，製劑導致目標組織處或循環中亞硝酸鹽或NO之含量增加。

**【0082】** 本發明尤其提供包含氨氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)之非限制性組合物，例如最佳化富養亞硝化單胞菌的純化製劑。在一些實施例中，組合物中之富養亞硝化單胞菌具有至少一種選自最佳化生長速率、最佳化 $\text{NH}_4^+$ 氧化速率及最佳化 $\text{NH}_4^+$ 抗性的特性。

**【0083】** 在一些態樣中，本發明提供具有確定數目之物種的組合物。組合物可僅包括一種類型之物種，例如一種類型之氨氧化微生物。本發明亦提供具有例如富養亞硝化單胞菌及另一種類型之生物體且無其他類型之生物體的組合物。在其他實例中，組合物具有例如富養亞硝化單胞菌及另2、3、4、5、6、7、8、9或10種類型之生物體，且無其他類型之生物體。此組合物中之另一種類型之生物體可例如為細菌，諸如氨氧化細菌。適用於此目的之氨氧化微生物包括亞硝化單胞菌屬、亞硝化球菌屬、亞硝化螺菌屬、亞硝化囊菌屬、亞硝化葉菌屬或亞硝化弧菌屬中之氨氧化微生物。同樣，組合物亦可包括AOA。

**【0084】** 在一些實施例中，包含例如富養亞硝化單胞菌之組合物提供支持富養亞硝化單胞菌活力的條件。舉例而言，該組合物可促進富養亞硝化單胞菌生長及代謝，或可促進休眠狀態(例如冷凍)，自其中可回收活富養亞硝化單胞菌。當組合物促進生長或代謝時，其可含有水及/或富養亞硝化單胞菌消耗之營養素，例如銨、氨、脲、氧氣、二氧化碳或微量礦物質。在一些實施例中，包含氨氧化微生物之組合物提供支持氨氧化微生物活力之條件。舉例而言，該組合物可促進氨氧化微生物生長及代謝或可促進如本文所描述之休眠狀態(例如冷凍)或儲存狀態，自其中可回收活氨氧化微生物。當組合物促進生長或代謝時，其可含有水及/或氨氧化微生物消耗之營養素，例如銨離子、氨、脲、氧氣、二氧化碳或微量礦物質。

【0085】 在一些實施例中，一或多種其他生物體，例如除氮氧化微生物以外的生物體可包括在氮氧化微生物之製劑中。舉例而言，選自由乳桿菌屬(*Lactobacillus*)、鏈球菌屬(*Streptococcus*)、雙歧桿菌屬(雙歧桿菌屬)及其組合組成之群之屬的生物體群落或生物體可提供於氮氧化微生物之製劑中。在一些實施例中，製劑可基本上不含其他生物體。

【0086】 氮氧化微生物之製劑可包含約 $10^3$ 至約 $10^{14}$  CFU/ml。在一些實施例中，氮氧化微生物之製劑可包含至少約或大於約 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ 、 $10^{10}$ 、 $10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$ 、 $10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 或 $10^{14}$  CFU/ml；或約 $10^3$ - $10^4$ 、 $10^4$ - $10^5$ 、 $10^6$ - $10^7$ 、 $10^7$ - $10^8$ 、 $10^8$ - $10^9$ 、 $10^9$ - $10^{10}$ 、 $10^{10}$ - $10^{11}$ 、 $10^{11}$ - $10^{12}$ 、 $10^{12}$ - $10^{13}$ 或 $10^{13}$ - $10^{14}$  CFU/ml。

【0087】 在一些實施例中，氮氧化微生物之製劑可包含約 $1 \times 10^9$ 至約 $10 \times 10^9$  CFU/ml。在一些實施例中，投與劑量之製劑可包含約 $3 \times 10^{10}$  CFU，例如每天 $3 \times 10^{10}$  CFU。在一些實施例中，投與劑量之製劑可包含每天約 $1 \times 10^9$ 至約 $10 \times 10^9$  CFU，例如每天約 $1 \times 10^9$ 至約 $10 \times 10^9$  CFU。在一些實施例中，投與劑量之製劑可包含每次投與或每天約 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ 、 $10^{10}$ 、 $10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$ 、 $10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 或 $10^{14}$  CFU；或約 $10^3$ - $10^4$ 、 $10^4$ - $10^5$ 、 $10^6$ - $10^7$ 、 $10^7$ - $10^8$ 、 $10^8$ - $10^9$ 、 $10^9$ - $10^{10}$ 、 $10^{10}$ - $10^{11}$ 、 $10^{11}$ - $10^{12}$ 、 $10^{12}$ - $10^{13}$ 或 $10^{13}$ - $10^{14}$  CFU。

【0088】 在一些實施例中，投與劑量之製劑可包含每週至少約 $7 \times 10^{10}$  CFU，例如 $21 \times 10^{10}$  CFU。在一些實施例中，投與劑量之製劑可包含每週約 $1 \times 10^9$ 至約 $10 \times 10^9$  CFU，例如每週約 $1 \times 10^9$ 至約 $10 \times 10^9$  CFU。在

一些實施例中，投與劑量之製劑可包含每週約或大於約 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ 、 $10^{10}$ 、 $10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$ 、 $10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 或 $10^{14}$  CFU；或約 $10^3$ - $10^4$ 、 $10^4$ - $10^5$ 、 $10^6$ - $10^7$ 、 $10^7$ - $10^8$ 、 $10^8$ - $10^9$ 、 $10^9$ - $10^{10}$ 、 $10^{10}$ - $10^{11}$ 、 $10^{11}$ - $10^{12}$ 、 $10^{12}$ - $10^{13}$ 或 $10^{13}$ - $10^{14}$  CFU。

**【0089】** 在一些實施例中，投與劑量之製劑可包含每月至少約 $30 \times 10^{10}$  CFU，例如 $90 \times 10^{10}$  CFU。在一些實施例中，投與劑量之製劑可包含每月約 $1 \times 10^9$ 至約 $10 \times 10^9$  CFU，例如每月約 $1 \times 10^9$ 至約 $10 \times 10^9$  CFU。在一些實施例中，投與之劑量製劑可包含每月約或大於約 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ 、 $10^{10}$ 、 $10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$ 、 $10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 或 $10^{14}$  CFU；或約 $10^3$ - $10^4$ 、 $10^4$ - $10^5$ 、 $10^6$ - $10^7$ 、 $10^7$ - $10^8$ 、 $10^8$ - $10^9$ 、 $10^9$ - $10^{10}$ 、 $10^{10}$ - $10^{11}$ 、 $10^{11}$ - $10^{12}$ 、 $10^{12}$ - $10^{13}$ 或 $10^{13}$ - $10^{14}$  CFU。

**【0090】** 在一些實施例中，氨氧化微生物之製劑可包含約0.1毫克(mg)至約1000 mg氨氧化微生物。在某些態樣中，製劑可包含約50 mg與約1000 mg之間的氨氧化微生物。製劑可包含約0.1-0.5 mg、0.2-0.7 mg、0.5-1.0 mg、0.5-2 mg、0.5-5 mg、2.5-5 mg、2.5-7.0 mg、5.0-10 mg、7.5-15 mg、10-15 mg、15-20 mg、15-25 mg、20-30 mg、25-50 mg、25-75 mg、50-75 mg、50-100 mg、75-100 mg、100-200 mg、200-300 mg、300-400 mg、400-500 mg、500-600 mg、600-700 mg、700-800 mg、800-900 mg、900-1000 mg、100-250 mg、250-500 mg、100-500 mg、500-750 mg、750-1000 mg或500-1000 mg。

**【0091】** 適宜地，調配物可具有促進AOM (例如富養亞硝化單胞

菌)活力，例如代謝活性之pH水準。脲將水解為氨且將使pH升高至7至8。AOB在此pH範圍內極具活性且將使pH降低至約6，NH<sub>3</sub>在該pH處轉化為銨且不可獲得。較低pH水準，例如約pH 4亦可接受。

**【0092】** 氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌可與一或多種醫藥學上或美容上可接受之賦形劑組合。在一些實施例中，「醫藥學上可接受之賦形劑」係指醫藥學上可接受之物質、組合物或媒劑，諸如液體或固體填充劑、稀釋劑、溶劑或囊封材料。在一些實施例中，各賦形劑在以下意義上為「醫藥學上可接受的」：與醫藥調配物之其他成分相容且適合用於與人類及動物之組織或器官接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應、免疫原性或其他問題或併發症，與合理的益處/風險比相稱。參見Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, Pa., 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第6版; Rowe等人編; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; Handbook of Pharmaceutical Additives, 第3版; Ash及Ash編; Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 第2版; Gibson編; CRC Press LLC: Boca Raton, Fla., 2009。

**【0093】** 在一些實施例中，美容上可接受之賦形劑係指美容上可接受之物質、組合物或媒劑，諸如液體或固體填充劑、稀釋劑、溶劑或囊封材料。在一些實施例中，各賦形劑在以下意義上為美容上可接受的：與美容調配物之其他成分相容且適合用於與人類及動物之組織或器官接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應、免疫原性或其他問題或併發症，與合理的益處/風險比相稱。

【0094】 雖然該活性成分(例如氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌)可單獨投與，但在多個實施例中，其存在於醫藥調配物或組合物中。因此，本發明提供一種醫藥調配物，其包含氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌及醫藥學上可接受之賦形劑。醫藥組合物可採取如下文所描述之醫藥調配物形式。

【0095】 根據一或多個實施例，氨氧化微生物之製劑可經調配以促進其所需遞送機制或投藥模式。本文所描述之調配物(例如醫藥或美容調配物)包括適合於例如經口、經腸(包括經頰、舌下、唇下及直腸)、非經腸(包括皮下、皮內、肌肉內、靜脈內及關節內)、吸入(包括可藉助於各種類型之計量劑量、加壓氣溶膠、噴霧器或吹入器產生之細粒粉塵或噴霧，且包括鼻內或經由肺)、鼻內、眼、耳、直腸、注射、泌尿生殖器及局部(包括皮膚、經皮、經黏膜、經頰、舌下及眼內)投與之調配物，但最適合之途徑可視例如接受者之病況或病症而定。

【0096】 根據一或多個非限制性實施例，包含氨氧化微生物之製劑可以如下形式向個體投與，例如用於美容或治療目的：溶液、懸浮液、粉末、液體、液滴、噴霧劑、氣溶膠、霧化劑、乳液、泡沫、乳霜、軟膏、凝膠、水凝膠、樹脂、錠劑、膠囊、膜、栓劑、灌腸劑、沖洗劑、子宮托、插入物、貼片(例如經皮貼片)或可植入裝置(例如支架、導管、陰道環或子宮內裝置)。

【0097】 亦揭示經組態以經由所需投與模式或另外經由靶向遞送來遞送包含活氨氧化微生物之製劑的裝置。

【0098】 根據一或多個實施例，該製劑可經配製用於靶向遞送至個體，例如至個體之目標組織、區域、系統或器官。舉例而言，製劑可經調

配用於遞送至個體之眼、耳、鼻、泌尿生殖系統、呼吸系統或胃腸道系統。在一些實施例中，靶向遞送可基於個體之病況或病症。舉例而言，用於靶向遞送之調配物可基於有待達成之所需局部或全身效應，例如局部或全身治療或美容效應。在一些實施例中，可選擇個體之目標組織、區域、系統或器官以使其與所需局部或全身效應相關。

**【0099】** 調配物可方便地以單位劑型存在且可藉由藥劑學領域中已知的任何方法來製備。通常，方法包括使活性成分(例如，氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌)與構成一或多個附屬成分之醫藥載劑結合的步驟。一般而言，藉由使活性成分與液體載劑或細粉狀固體載劑或二者均勻且緊密結合，且隨後在必要時將產物塑形成所需調配物來製備調配物。

**【0100】** 調配物可呈現為以下形式：離散單元，諸如膠囊、扁囊劑或錠劑，各含有預定量之例如富養亞硝化單胞菌；粉末或顆粒；水性液體或非水性液體中之溶液或懸浮液；或水包油型液體乳液或油包水型液體乳液。調配物，例如溶液、氣溶膠、噴霧劑及霧化劑可呈現為多劑型，例如包括預定數目之劑量的包裝單元，或單劑型，例如包括單次劑量之包裝單元。活性成份亦可呈現為大丸劑、舐劑或糊劑形式。各種醫藥學上可接受之載劑及其調配物描述於標準調配物論文中，例如E. W. Martin之Remington's Pharmaceutical Sciences。亦參見Wang, Y. J.及Hanson, M. A., Journal of Parenteral Science and Technology, 第10期技術報告, 增刊42:2 S, 1988。

**【0101】** 氨氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)組合物可例如以適合於立即釋放或延長釋放之形式投與。持續釋放系統之適合實例包括適合聚合材料，例如呈成型物(例如膜或微囊)形式之半滲透聚合物基質；適合

疏水性物質，例如含乳液之可接受油狀物油狀物離子交換樹脂。持續釋放系統可如下投與：經口；經直腸；非經腸；腦池內；陰道內；腹膜內；局部，例如呈粉末、軟膏、凝膠、液滴或經皮貼片形式；經頰；或以噴霧形式。

**【0102】** 用於投與之製劑可經適當調配以控制釋放氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌。舉例而言，醫藥組合物可呈包含生物可降解聚合物、多醣凝膠狀及/或生物黏附聚合物或兩親媒性聚合物中之一或多者的粒子形式。此等組合物展現某些生物相容性特徵，其允許控制釋放活性物質。參見美國專利第5,700,486號。

**【0103】** 例示性組合物包括懸浮液，其可含有例如賦予鬆散性之微晶纖維素、作為懸浮劑之海藻酸或海藻酸鈉、作為黏度增強劑之甲基纖維素、磷酸二鈣、澱粉、硬脂酸鎂及/或乳糖及/或其他賦形劑、黏合劑、增量劑、崩解劑、稀釋劑及潤滑劑、甘露醇、乳糖、蔗糖及/或環糊精。此類調配物亦可包括高分子量賦形劑，諸如纖維素(晶性纖維素)或聚乙二醇(PEG)。此類調配物亦可包括：輔助黏膜黏附之賦形劑，諸如羥丙基纖維素(HPC)、羥丙基甲基纖維素(HPMC)、羧甲基纖維素鈉(SCMC)、順丁烯二酸酐共聚物(例如Gantrez)；及控制釋放劑，諸如聚丙烯酸共聚物(例如Carbopol 934)。亦可添加潤滑劑、滑動劑、調味劑、著色劑及穩定劑以便易於製造及使用。界面活性劑可為兩性離子界面活性劑、非離子界面活性劑或陰離子表面活性劑。

**【0104】** 可用於本發明之實施例的賦形劑，諸如界面活性劑可包括以下中之一或多者：椰油醯胺基丙基甜菜鹼(ColaTeric COAB)、聚乙烯山梨醇酯(例如Tween 80)、乙氧基化月桂醇(RhodaSurf 6 NAT)、月桂醇

醚硫酸鈉/月桂基葡萄糖苷/椰油醯胺基丙基甜菜鹼(Plantapon 611 L UP)、月桂醇醚硫酸鈉(例如RhodaPex ESB 70 NAT)、烷基多葡萄糖苷(例如Plantaren 2000 N UP)、月桂醇醚硫酸鈉(Plantaren 200)、布朗博士潔膚皂(Dr. Bronner's Castile soap)、布朗博士嬰兒皂(Dr. Bronner's baby soap)、月桂基胺氧化物(ColaLux Lo)、十二烷基硫酸鈉(SDS)、聚磺酸酯烷基多葡萄糖苷(PolySufanate 160 P)、月桂基硫酸鈉(Stepanol-WA Extra K)以及其組合。布朗博士潔膚皂及布朗博士嬰兒皂包含水、有機椰子油、氫氧化鉀、有機橄欖油、有機平價大麻油、有機荷荷芭油、檸檬酸及生育酚。

**【0105】** 在一些實施例中，界面活性劑可與氨氧化微生物一起使用，其量允許產生亞硝酸鹽。在一些實施例中，製劑可具有小於約0.0001%至約10%之界面活性劑。在一些實施例中，製劑可具有約0.1%至約10%之界面活性劑。在一些實施例中，所用界面活性劑之濃度可在約0.0001%與約10%之間。在一些實施例中，製劑可基本上不含界面活性劑。

**【0106】** 在一些實施例中，調配物(例如製劑)可包括可增強氨氧化微生物之有效性、其遞送或增強治療或指示度的其他組分。

**【0107】** 在一些實施例中，螯合劑可包括在製劑中。螯合劑可為可與另一種化合物(例如金屬)結合之化合物。螯合劑可為自環境去除非所需化合物提供幫助，或可以保護性方式起作用以減少或消除特定化合物與環境之接觸，例如氨氧化微生物，例如氨氧化微生物之製劑，例如賦形劑。在一些實施例中，製劑可基本上不含螯合劑。

**【0108】** 調配物亦可含有抗氧化劑、緩衝劑、預防非所需微生物生

長之抑菌劑、溶質以及可包括懸浮劑及增稠劑之水性及非水性無菌懸浮液。調配物可存在於單位劑量或多劑量容器中，例如密封安瓿及小瓶，且可在冷凍乾燥(凍乾)條件下儲存，僅需要在即將使用之前添加無菌液體載劑，例如鹽水或注射用水。可自前述種類之粉末、顆粒及錠劑製備即用型溶液及懸浮液。例示性組合物包括溶液或懸浮液，其可含有例如適合之無毒、醫藥學上可接受之稀釋劑或溶劑，諸如甘露醇、1,3-丁二醇、水、林格氏溶液、等滲氯化鈉溶液或其他適合之分散劑或潤濕劑及懸浮劑，包括合成單甘油酯或二甘油酯，及脂肪酸，包括油酸或Cremaphor。水性載劑可為例如pH為約3.0至約8.0、pH為約3.5至約7.4、例如3.5至6.0、例如3.5至約5.0之等滲緩衝溶液。適用緩衝劑包括檸檬酸鈉-檸檬酸及磷酸鈉-磷酸，以及乙酸鈉/乙酸緩衝劑。在一些實施例中，組合物不包括氧化劑。

**【0109】** 可包括之賦形劑為例如蛋白質，諸如人血清白蛋白或血漿製劑。若需要，醫藥組合物亦可含有少量無毒輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、防腐劑及pH緩衝劑及其類似物，例如乙酸鈉或脫水山梨糖醇單月桂酸酯。在一些實施例中，賦形劑，例如醫藥學上可接受之賦形劑或美容上可接受之賦形劑可包含抗黏劑、黏合劑、包衣、崩解劑、填充劑、調味劑、著色劑、潤滑劑、助流劑、吸附劑、防腐劑或甜味劑。在一些實施例中，製劑可基本上不含賦形劑。

**【0110】** 在一些實施例中，製劑可基本上不含本發明中所列之一或多種化合物或物質。

**【0111】** 用於噴霧劑、氣溶膠或霧化劑投與之例示性組合物包括鹽水溶液，其可含有例如苯甲醇或其他適合之防腐劑、增強生物可用性之吸收促進劑及/或其他增溶劑或分散劑。宜在用於氣溶膠投與之組合物中使

用適合之推進劑，例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適合之氣體，以來自加壓包裝或霧化器之氣溶膠噴霧呈遞形式遞送氮氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌。就加壓氣溶膠而言，劑量單位可藉由提供閥以遞送所計量之量來測定。例如明膠之膠囊及藥筒可經調配以含有富養亞硝化單胞菌及適合之粉末基質(例如乳糖或澱粉)的粉末混合物。在某些實施例中，富養亞硝化單胞菌經由氣溶膠配接器(亦稱為致動器)以氣溶膠形式自計量劑量閥投與。視情況，亦包括穩定劑，及/或包括用於深肺遞送之多孔粒子(例如參見美國專利第6,447,743號)。

**【0112】** 調配物可提供有載劑，諸如可可脂、合成甘油酯或聚乙二醇。此類載劑在常溫下通常為固體，但在體溫下液化及/或溶解以釋放氮氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌。

**【0113】** 用於局部投與之例示性組合物包括局部載劑，諸如Plastibase (用聚乙烯膠化之礦物油)。在一些態樣中，組合物及/或賦形劑可呈液體、固體或凝膠中之一或多者的形式。舉例而言，液體懸浮液可包括(但不限於)水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水或氮氧化儲存緩衝液。凝膠調配物可包括(但不限於)瓊脂、二氧化矽、聚丙烯酸(例如Carbopol®)、羧甲基纖維素、澱粉、瓜爾膠、海藻酸鹽或聚葡萄糖。在一些實施例中，調配物可補充有氮源，包括(但不限於)氯化銨或硫酸銨。

**【0114】** 在一些實施例中，氮氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)組合物經調配以改良NO滲透，例如進入皮膚或其他目標組織。諸如KY膠凍或各種毛髮膠之凝膠形成物質將對NO向周圍空氣之損失提供擴散障壁，且因此改良皮膚對NO之吸收。皮膚中之NO含量將一般不會遠遠超過20 nM/L，因為該含量活化GC且會引起局部血管舒張及過量NO的氧化破

壞。

**【0115】** 應理解，除上文所特定提及之成分以外，如本文所描述之調配物可包括此項技術中關於所討論類型之調配物習知的其他試劑。

**【0116】** 調配物(例如製劑，例如組合物)可提供於容器、遞送系統或遞送裝置中，重量(包括或不包括容器之 內含物)可小於約50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1500或2000公克。

**【0117】** 適合之單位劑量調配物為含有上文列出之有效劑量或其適當分率之氨氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)的調配物。

**【0118】** 治療有效量之氨氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)可以單次脈衝劑量形式、以推注劑量形式或以隨時間推移投與之脈衝劑量形式投與。因此，在脈衝劑量中，提供氨氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)之推注投與，隨後向個體投與氨氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)一段時間，接著進行第二推注投與。在具體的非限制性實例中，脈衝劑量在一天的時程中、在一週的時程中或在一個月的時程中投與。

**【0119】** 在一些實施例中，氨氧化微生物之製劑(例如調配物，例如組合物)可施用預定天數。此可例如至少部分基於病況或疾病之嚴重度、對治療之反應、施用劑量及劑量頻率。舉例而言，製劑可施用約1-3、3-5、5-7、7-9、5-10、10-14、12-18、12-21、21-28、28-35、35-42、42-49、49-56、46-63、63-70、70-77、77-84、84-91天、約1個月、約2個月、約3個月。在一些實施例中，氨氧化細菌投與不定時間段，例如大於一年、大於5年、大於10年、大於15年、大於30年、大於50年、大於75年。在某些態樣中，製劑可施用約16天。

【0120】 在一些實施例中，氨氧化微生物之製劑(例如調配物，例如組合物)可每天施用預定次數。此可例如至少部分基於病況或疾病之嚴重度、對治療之反應、施用劑量及劑量頻率。舉例而言，製劑可每天施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24次。

【0121】 在一些實施例中，製劑可每天施用一次。在其他實施例中，製劑可每天施用兩次。在一些實施例中，製劑可持續一定天數施用第一預定量，且持續一定後續天數施用第二預定量。在一些實施例中，製劑可施用約16天。

【0122】 根據一或多個實施例，製劑可一般與個體相關之生理環境相容。在至少一些實施例中，組合物經調配以具有基本上中性的pH或生理pH，例如通常在目標位點中存在之pH，以達到預期遞送、投與或所需效應。組合物可經調配以具有約5.5與約8.5之間的pH。組合物可經調配以包含與個體相關之生理環境之目標位點相容的條件，例如pH、張力。

【0123】 製劑可經調配以用於經黏膜遞送及/或循環，例如局部或全身性地。在一些實施例中，製劑可經調配以使得氨氧化微生物、其產物或其副產物(例如硝酸鹽、亞硝酸鹽、NO或CoQ8)滲透至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%之沈積組織或目標組織。製劑可經調配以使得10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%之氨氧化微生物、其產物或其副產物滲透沈積組織或目標組織或進入循環。

【0124】 根據一或多個實施例，製劑可呈用於向個體投與之溶液、懸浮液、乳液、乳膏、軟膏、凝膠、水凝膠或液體(例如液滴、噴霧劑、

氣溶膠或霧化劑)、錠劑、膠囊或裝置形式。

**【0125】** 根據一或多個實施例，包含氨氧化微生物之製劑、組合物、調配物或產品可在製造時及/或在其完成後進行品質控制及/或測試。國際(PCT)專利申請公開案第WO2015/179669號(2015年5月21日申請之國際(PCT)專利申請案第PCT/US2015/032017號)描述各種用氨氧化微生物製備材料及測試此類材料之方法，該公開案在此以全文引用之方式併入本文中用於所有目的。舉例而言，一或多個參數，諸如OD水準、pH水準、廢物含量、營養素含量、污染物含量、氧化速率、亞硝酸鹽含量、蛋白質濃度可與對照預定值進行比較，以評定或評估包含氨氧化微生物之製劑。

**【0126】** 本發明尤其提供一種包含如本文所揭示之氨氧化微生物之製劑的套組。調配物可包含離散單元，例如氨氧化微生物之固體、液體或氣體調配物。調配物，例如溶液、氣溶膠、噴霧劑及霧化劑可呈現為多劑型(多次使用)，例如包括預定數目之劑量的包裝單元，或單劑型(單次使用)，例如包括單次劑量之包裝單元。氨氧化微生物之製劑可包裝在裝置或容器中，該等裝置或容器經組態以容納至少約小於1 ml、1 ml、5 ml、10 ml、20 ml、25 ml、40 ml、50 ml、60 ml、70 ml、80 ml、90 ml、100 ml或大於約100 ml之體積。

**【0127】** 套組可進一步包含一或多種用於投與製劑之裝置，例如注射器、針頭、導管、灌腸器、球管、滴管(眼或耳滴管)及此項技術中已知的用於藥物投與之其他裝置。套組可包含使用說明書，例如用於投與如本文所揭示之氨氧化微生物之說明書或用於包括投與氨氧化微生物之組合療法之說明書。套組可包含與如本文所揭示之氨氧化製劑結合投與之第二或

後續組合物。舉例而言，套組可包含有包含氨氧化微生物之產物或副產物的補充物或組合物，促進氨氧化微生物之生長或代謝的組合物，促進氨氧化微生物之產物或副產物之產生的組合物，促進脲酶活性之組合物，或與氨氧化微生物具有協同效應之組合物，或治療、例如批准用於治療或常用於治療相關疾病、病症或相關疾病或病症之症狀的組合物或醫藥劑，例如消炎組合物。套組可包含如本文所揭示之「生物群落友好」或「生物群落相容」產品，例如一或多種微生物群落相容之美容產品。包含於套組中之任何產品可經專門調配以治療目標適應症及/或經調配用於所需遞送模式，如本文所描述。

#### **【0128】**

#### **天然產品；消費產品**

在一些具體實施例中，如本文所論述之包含氨氧化微生物之製劑可為天然產品或消費產品。在其他實施例中，氨氧化微生物之製劑可替代地與天然產品或消費產品結合使用。

**【0129】** 氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌可與多種天然產品結合，且此類產品之實例陳述於下文。此等天然產品可包含在整個本發明中揭示之調配物、組合物或製劑。

**【0130】** 天然產品可為或包含用於商業目的之產品，且係指產生自天然來源之化妝品、膳食補充劑及食物，例如食品、食品補充劑、醫療食品、食品添加劑、類藥劑營養品或飲料。天然產品可具有可例如在治療疾病或病況中具有治療效益之藥理學或生物活性。天然產品可包括於傳統藥物、用於美容目的之治療及水療池治療中。本文所提及之天然產品可包含待併入包含一或多種其他組分(例如賦形劑)之製劑或調配物中的描述為天

然產品的任一或多種組分。稱為天然產品之製劑或調配物可包含本文所定義之天然產品及一或多種額外組分或成分。在整個本發明中論述之任何組合物、製劑或調配物可為或包含一或多種天然產品。

**【0131】** 在一些實施例中，天然產品或強化天然產品可包含泥漿、水、食物源產品、植物源產品、提取物及油。天然產品或強化天然產品可用於水療池治療中。在一些實施例中，天然產品或強化天然產品可併入以下中之至少一者中：粉末、乳膏、洗劑、包裹物、擦洗液、眼膜、面膜、身體膜、氣溶膠(例如霧化劑)、噴霧劑、油膏、擦拭物、棒狀物、繃帶或浸液。

**【0132】** 在一些實施例中，天然產品或強化天然產品可提供為或可置於以下中之至少一者中：嬰兒產品，例如嬰兒洗髮劑、嬰兒潤膚乳、嬰兒油、嬰兒爽身粉、嬰兒潤膚霜；沐浴製劑，例如浴油、浴錠、浴鹽、泡泡浴、浴囊；眼妝製劑，例如眉筆、眼線、眼影、眼用洗劑、眼部卸妝液、睫毛膏；芳香製劑，例如古龍水、化妝水、香水、香粉(敷粉及滑石粉)、香囊；髮用製劑，例如護髮素、髮膠、直髮劑、捲髮劑(permanent wave)、沖洗液、洗髮劑、滋養劑、美髮劑、順髮劑、捲髮液；染髮製劑，例如染髮劑及染色劑、頭髮染色劑、染色頭髮清洗劑、染色頭髮洗髮劑、有色頭髮漂白劑、頭髮漂白劑；化妝製劑，例如蜜粉、粉底、腿部及身體底彩、口紅、打底霜、胭脂、定妝粉；美甲製劑，例如底塗層及下塗層、角皮軟化劑、護甲霜及護甲乳、指甲增長劑、指甲光澤劑及指甲油、指甲光澤劑及指甲油去除劑；口腔衛生產品，例如牙膏、漱口水及口氣清新劑；浴皂及洗滌劑、除臭劑、灌洗劑、女性衛生除臭劑；剃鬚製劑，例如鬚後乳、鬚鬚軟化劑、滑石粉、鬚前乳、剃鬚膏、剃鬚皂；護膚製劑，

例如清潔劑、脫毛劑、面部及頸部、身體及手部、足部粉末及噴霧、保濕劑、夜用製劑、膏狀面膜、爽膚水；以及防曬製劑，例如防曬露、防曬霜及防曬液，以及室內美黑製劑。

**【0133】** 氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌可能與多種消費產品結合，且此類產品之實例陳述如下且包含整個本發明所揭示之調配物、組合物或製劑。在一些實施例中，與產品結合之氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌與產品摻合，例如均勻擴散在整個產品中，且在一些實施例中，與產品結合之氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌在產品上分層。

**【0134】** 在一些實施例中，製劑可置於，或提供為粉末、化妝品、乳膏、棒狀物、氣溶膠(例如霧化劑)、油膏、擦拭物或繃帶。

**【0135】** 在一些實施例中，氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌與粉末結合。粉末通常為不彼此連接且可在斜置時自由流動之小微粒固體。供消費使用之例示性粉末包括滑石粉及一些化妝品(例如粉狀粉底)。

**【0136】** 在一些實施例中，氨氧化細菌與化妝品結合。化妝品可為期望改變個人外觀之局部施用物質，例如液體粉底、粉狀粉底、腮紅或口紅，且可稱為製劑。化妝品可為美國食品藥物管理局法規(例如21 C.F.R.§ 720.4)中列出的任何物質。

**【0137】** 在一些實施例中，氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌與化妝品結合。化妝品可為期望改變個人外觀之局部施用物質，例如液體粉底、粉狀粉底、腮紅或口紅。其他組分可添加至如由熟習美容調配物技術者選擇之此等美容製劑，諸如水、礦物油、著色劑、香水、蘆薈、甘油、氯化鈉、碳酸氫鈉、pH緩衝液、UV阻斷劑、聚矽氧油、天然油、維生素E、草本濃縮物、乳酸、檸檬酸、滑石、黏土、碳酸鈣、碳酸鎂、氧化

鋅、澱粉、脲及異抗壞血酸，或熟習此項技術者已知之任何其他賦形劑，包括本文所揭示之彼等。

**【0138】** 製劑(例如化妝品)可為中之至少一者：嬰兒產品，例如嬰兒洗髮劑、嬰兒潤膚乳、嬰兒油、嬰兒爽身粉、嬰兒潤膚霜；沐浴製劑，例如浴油、浴錠、浴鹽、泡泡浴、浴囊；眼妝製劑，例如眉筆、眼線、眼影、眼用洗劑、眼部卸妝液、睫毛膏；芳香製劑，例如古龍水、化妝水、香水、香粉(敷粉及滑石粉)、香囊；髮用製劑，例如護髮素、髮膠、直髮劑、捲髮劑、沖洗液、洗髮劑、滋養劑、美髮劑、順髮劑、捲髮液；染髮製劑，例如染髮劑及染色劑、頭髮染色劑、染色頭髮清洗劑、染色頭髮洗髮劑、有色頭髮漂白劑、頭髮漂白劑；化妝製劑，例如蜜粉、粉底、腿部及身體底彩、口紅、打底霜、胭脂、定妝粉；美甲製劑，例如底塗層及下塗層、角皮軟化劑、護甲霜及護甲乳、指甲增長劑、指甲光澤劑及指甲油、指甲光澤劑及指甲油去除劑；口腔衛生產品，例如牙膏、漱口水及口氣清新劑；浴皂及洗滌劑、除臭劑、灌洗劑、女性衛生除臭劑；剃鬚製劑，例如鬚後乳、鬚鬚軟化劑、滑石粉、鬚前乳、剃鬚膏、剃鬚皂；護膚製劑，例如清潔劑、脫毛劑、面部及頸部、身體及手部、足部粉末及噴霧、保濕劑、夜用製劑、膏狀面膜、爽膚水；以及防曬製劑，例如防曬露、防曬霜及防曬液，以及室內美黑製劑。

**【0139】** 在一些實施例中，本文所描述之調配物、組合物或製劑可包含、提供為或置於以下中之至少一者中：嬰兒產品，例如嬰兒洗髮劑、嬰兒潤膚乳、嬰兒油、嬰兒爽身粉、嬰兒潤膚霜；沐浴製劑，例如浴油、浴錠、浴鹽、泡泡浴、浴囊；香粉(敷粉及滑石粉)、香囊；髮用製劑，例如護髮素、沖洗液、洗髮劑、滋養劑；蜜粉、角皮軟化劑、護甲霜及護甲

乳、口腔衛生產品、漱口水、浴皂、灌洗劑、女性衛生除臭劑；剃鬚製劑，例如鬚後乳；護膚製劑，例如清潔劑、面部及頸部、身體及手部、足部粉末及噴霧、保濕劑、夜用製劑、膏狀面膜、爽膚水；及防曬製劑，例如防曬露、防曬霜及防曬液。

**【0140】** 在一些實施例中，氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌與氣溶膠、噴霧劑或霧化劑結合且此等術語可互換使用。氣溶膠通常為精細固體粒子或精細液滴於諸如空氣之氣體中之膠體。氣溶膠可由將富養亞硝化單胞菌(及視情況選用之載劑)置於負壓容器中，且隨後打開閥以釋放內含物而產生。容器可經設計以僅施加與富養亞硝化單胞菌活力相容之壓力水準。舉例而言，可僅在短時間內施加高壓，及/或壓力可足夠低以不削弱活力。消費使用之氣溶膠之實例包括防曬劑、除臭劑、香水、髮膠及驅蟲劑。氣溶膠可稱為噴霧劑或霧化劑。

**【0141】** 包含氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌之組合物亦可包含以下中之一或多者：保濕劑、除臭劑、加香劑、著色劑、驅蟲劑、清潔劑或UV阻斷劑。

**【0142】** 在一些實施例中，氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌與織物、紗線或絲線結合。衣物製品，諸如鞋子、鞋墊、睡衣、運動鞋、腰帶、帽子、襯衫、內衣、運動服、頭盔、毛巾、手套、襪子、繃帶及其類似物亦可用氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌處理。寢具，包括被單、枕頭、枕套及毯子亦可用氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌處理。在一些實施例中，一段時間無法洗滌之皮膚區域亦可與氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌接觸。舉例而言，在癒合過程期間固定受傷肢體之矯形石膏中封閉之皮膚，及接近必須保持乾燥以恰當癒合之創傷(諸如縫合傷

口)的區域可受益於與氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌接觸。

**【0143】** 在一些態樣中，本發明提供包含如本文所描述之氨氧化微生物的可穿戴物品。可穿戴物品可為可以不妨礙步行之方式與使用者身體緊密貼合之輕質物品。可穿戴物品之實例包括腕錶、腕帶、束頭帶、橡皮筋、髮網、浴帽、帽子、假髮及珠寶。本文所描述之包含氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌菌株之可穿戴物品可例如以提供以下中之一或多者之一定濃度提供：治療或預防皮膚病症，治療或預防與低亞硝酸鹽含量相關之疾病或病況，治療或預防體臭，治療以向個體供應氧化氮，或治療以抑制微生物生長。

**【0144】** 該可穿戴物品可包含經製劑預處理之衣物或配件。舉例而言，可穿戴物品可包含以供人類個體使用之衣物或配件。此類衣物或配件包括例如尤其襯衫、褲子、裙子、夾克、鞋襪、頭飾、內衣、手環、項鍊、手錶、耳環。可穿戴物品可包含以供動物個體使用之衣物或配件。此類衣物或配件可包括例如尤其襯衫、頸圈、馬具、皮帶繩、馬鞍座氈、馬鞍。

**【0145】** 在一些實施例中，氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌與期望接觸頭髮之產品結合，例如毛刷、梳子、洗髮劑、護髮素、束頭帶、橡皮筋、髮網、浴帽、帽子及假髮。遠離皮膚表面，在頭髮上所形成之氧化氮可捕獲於帽子、圍巾或面罩中且導引至吸入的空氣中。

**【0146】** 接觸人類個體表面之製品，諸如尿布可與氨氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌結合。由於尿布經設計以容留及容納由失禁個體產生之尿液及糞便，尿液及糞便中之脲可由皮膚及糞便細菌水解以形成游離氨，其為刺激性的且可引起尿布疹。併入將脲代謝為亞硝酸鹽或硝酸鹽之

細菌，諸如氨氧化細菌，例如富養亞硝化單胞菌可避免釋放游離氨且可釋放亞硝酸鹽且最終釋放NO，其可幫助兒童及失禁成人維持皮膚健康。氧化氮在尿布中釋放亦可對存在於人類糞便中之引起疾病之生物體具有抗微生物效應。此效應甚至在一次性尿布作為廢物棄置之後仍可繼續且可降低疾病經由接觸受污染之一次性尿布而傳播的發生率。

**【0147】** 在一些實施例中，包含氨氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)之產品經包裝。包裝可用以使產品緊湊或保護其免受損壞、污垢或降解。包裝可包含例如塑膠、紙、卡紙板或木材。在一些實施例中，包裝為細菌不可滲透的。在一些實施例中，包裝為氧氣及/或二氧化碳可滲透的。

#### **【0148】**

### **使用氨氧化微生物之治療方法**

根據一或多個實施例，個體可經由投與氨氧化微生物，例如包含氨氧化微生物之製劑來治療。如本文所用，治療個體可包含出於美容或治療結果而投與氨氧化微生物組合物。舉例而言，治療可包含治療或緩解病況、與病況相關之症狀或副作用或實現所需美容效應。

**【0149】** 個體可包括動物、哺乳動物、人類、非人類動物、家畜動物或伴侶動物。個體可為雌性或雄性。個體可具有各種皮膚類型。個體可具有各種健康相關概況，包括健康史及/或遺傳易感性。個體可一般具有正常微生物群落，例如生理微生物群落，或經破壞之微生物群落。該個體特徵可為以下種族/人種中之一者：亞洲人、黑人或非裔美國人、西班牙裔或拉丁裔、白人或多種族。該個體之年齡可小於1歲，或在1-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60歲之間，或超過60歲。

**【0150】** 可用於治療個體之氮氧化微生物包括本申請案中所描述之所有氮氧化微生物(例如富養亞硝化單胞菌)組合物，例如最佳化氮氧化微生物(例如菌株D23)之純化製劑。

**【0151】** 可提供方法以投與或遞送治療產品或美容產品。該等方法可包含向個體投與或引入包含活氮氧化微生物之製劑。製劑可經調配用於治療目標適應症及/或經調配用於所需遞送模式。

**【0152】** 根據一或多個實施例，包含活氮氧化微生物之製劑可投與至個體之第一組織。第一組織可為沈積組織。第一組織可為目標組織或除目標組織以外的組織。活氮氧化微生物或其產物，例如亞硝酸鹽及/或氧化氮隨後可例如經由擴散移動或傳輸至第二組織。第二組織可為目標組織。目標組織可與所需局部或全身效應相關。目標組織可與待治療之適應症、病症或病況相關。

**【0153】** 氮氧化微生物製劑可例如出於美容或治療效果而投與至皮膚。舉例而言，投與可提供美容治療、益處或效應。在一些實施例中，投與可提供以下中之一或多者的治療或改善：油性外觀、毛孔外觀、光澤度、斑點外觀、膚色均勻度、視覺光滑度及觸覺光滑度。在一些實施例中，個體之美容外觀可改變，諸如可由改善之皮膚健康產生。衰老跡象可減少、延遲或逆轉。投與可使得皮膚及/或頭皮狀況及/或品質之定性改善。個體之皮膚光滑度、保濕、緊致性及/或柔軟度可得以改善。本發明亦提供一種減輕體臭之方法。

**【0154】** 投與可提供治療性治療、益處或效應。本發明提供一種向個體供應亞硝酸鹽及氧化氮之方法。本發明提供使用氮氧化微生物來抑制、治療或預防疾病、病症、感染及病況之各種方法。氮氧化微生物可例

如用於治療與低亞硝酸鹽含量相關之各種疾病、皮膚病及由病原菌引起之疾病。在一些實施例中，投與可減輕炎症。實際上，可展示局部或全身性消炎效應。在至少一些實施例中，可抑制微生物生長。可改善皮膚及總體健康。可強化不足之循環。可促進內皮細胞功能。可展示目標組織處或循環中亞硝酸鹽或NO之含量的變化。在一些實施例中，投與(例如投與有效量)可調節、改變或更改目標組織處或循環中亞硝酸鹽或NO之含量。在一些實施例中，投與(例如投與有效量)可使得目標組織處或循環中亞硝酸鹽或NO之含量增加。

**【0155】** 投與本文所揭示之組合物可提供經黏膜遞送及/或循環，例如局部或全身性地。在一些實施例中，投與可使得氮氧化微生物、其產物或其副產物(例如硝酸鹽、亞硝酸鹽、NO或CoQ8滲透)至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、或100%之沈積組織或目標組織。在至少一些實施例中，10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、或100%之氮氧化微生物、其產物或其副產物在投與本文所揭示之組合物後滲透沈積組織或目標組織或進入循環。

**【0156】** 本發明之製劑及方法可使得自與個體相關之環境減少一定量的非所要微生物。本文所描述之氮氧化微生物可藉由例如消耗稀少營養素，或產生對其他生物體有害之副產物，例如改變對非所要生物體之生長不利的pH水準而勝過其他生物體。

**【0157】** 本發明亦提供一種促進諸如癒合能力削弱之患者，例如糖尿病患者之傷口癒合(包括慢性傷口)之方法。包括氮氧化微生物之繃帶可視情況施用於傷口。

**【0158】** 應理解，許多現代退行性疾病可由缺乏NO物種引起，且

AOM可直接投與至目標組織或經由擴散投與至目標組織以供應彼等物種。施用AOM可解決存在已久的醫學病況。在某些實施例中，向個體施用AOM以補償現代沐浴習慣，尤其自外部皮膚去除AOM之陰離子洗滌劑。

**【0159】** 根據一或多個實施例，AOM將氨轉化為抗微生物化合物亞硝酸鹽及充分證明的發炎過程中之信號傳導分子氧化氮。

**【0160】** 本發明尤其提供一種調節微生物群落之組成，例如調節或改變環境，例如表面，例如個體表面之微生物群落之比例的方法。此可繼而展現健康相關之益處。該方法可包含向個體投與包含氨氧化微生物之製劑。在一些實施例中，投與，例如施用之量及頻率可足以減少一定比例之病原微生物。

**【0161】** 向個體，例如人類個體施用氨氧化微生物可引起微生物群落之出人意料的變化。其可使得正常的共生非病原性物種之比例增加及潛在病原性、病原性或引起疾病之生物體之比例減少。

**【0162】** 非病原性細菌之比例之增加可在預定時間段，例如小於1天、2天、3天、4天、5天、1週、2週、3週或4週，或小於1-3、3-5、5-7、7-9、5-10、10-14、12-18、12-21、21-28、28-35、35-42、42-49、49-56、46-63、63-70、70-77、77-84、84-91天內發生。

**【0163】** 非病原性細菌之比例之減少可在預定時間段，例如小於1天、2天、3天、4天、5天、1週、2週、3週或4週，或小於1-3、3-5、5-7、7-9、5-10、10-14、12-18、12-21、21-28、28-35、35-42、42-49、49-56、46-63、63-70、70-77、77-84、84-91天內發生。

**【0164】** 根據一或多個實施例，可關於治療需要對個體進行評估。

在一些實施例中，可基於個體需要治療來選擇個體。本發明可進一步提供自個體獲得樣品且分析樣品。

**【0165】** 根據一或多個實施例，投與可在出現健康相關病況之前、期間或之後，或回應於其警告信號、觸發或症狀而進行。根據一或多個實施例，可向個體投與第二量之製劑，例如第二劑量。

**【0166】** 在某些態樣中，本發明提供包含氮氧化微生物，例如富養亞硝化單胞菌及第二治療，例如治療劑之組合療法。舉例而言，本發明提供以物理方式摻合之兩種(或超過兩種)療法之物理摻合物。在其他實施例中，兩種(或超過兩種)療法作為單獨的調配物組合投與。第二療法可例如為醫藥劑、手術、診斷或治療，例如批准用於治療或常用於治療相關疾病、病症或相關疾病或病症之症狀的任何其他醫學途徑。第二治療可在投藥之前或之後投與。有效量可與第二治療同時投與。第二治療可經由相同或不同遞送模式來投與。個體可在投與製劑後具有治療水準之第二治療。在某些實施例中，第二治療可提供消炎效應或經投與以減輕目標位點之炎症。在至少一些實施例中，製劑可與氮氧化微生物之產物或副產物，例如亞硝酸鹽、硝酸鹽、氧化氮、CoQ8同時或結合投與。在至少一些實施例中，製劑可與促進氮氧化微生物生長或代謝、促進氮氧化微生物之產物或副產物產生、促進脲酶活性或與氮氧化微生物具有協同效應之組合物(例如氨、銨鹽、脲及脲酶)同時或結合投與。

**【0167】** 製劑可與微生物群落清潔製劑，例如局部或全身性抗生素一起投與。製劑可在投與清潔製劑或清腸劑之後投與。製劑可在手術程序、診斷程序或天然事件(例如分娩)之前或之後投與。製劑可在置入可植入或侵入性裝置之前、期間或之後投與。

【0168】 根據一或多個實施例，製劑可作為鎮痛劑或預防劑投與。製劑可自投與。製劑投與可為裝置輔助式的。

【0169】 在一些實施例中，氮氧化微生物，例如氮氧化微生物之製劑係以每次施用、每天、每週或每月約或大於約 $10^3$ - $10^4$  CFU、 $10^4$ - $10^5$  CFU、 $10^5$ - $10^6$  CFU、 $10^6$ - $10^7$  CFU、 $10^7$ - $10^8$  CFU、 $10^8$ - $10^9$  CFU、 $10^9$ - $10^{10}$  CFU、 $10^{10}$ - $10^{11}$  CFU、 $10^{11}$ - $10^{12}$  CFU、 $10^{12}$ - $10^{13}$  CFU或 $10^{13}$ - $10^{14}$  CFU之劑量進行投與。在一些實施例中，氮氧化微生物係以每次施用或每天約 $10^9$ - $10^{10}$  CFU，例如約 $1 \times 10^9$ 至 $5 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^9$ 至 $3 \times 10^9$ 或 $1 \times 10^9$ 至 $10 \times 10^9$  CFU之劑量進行投與。

【0170】 在一些實施例中，氮氧化微生物係以每劑量約1-2、2-5、5-10、10-15、12-18、15-20、20-25、或25-50 ml之體積投與。在一些實施例中，溶液之濃度為約 $10^8$ - $10^9$ 、 $10^9$ - $10^{10}$ 或 $10^{10}$ - $10^{11}$  CFU/ml。在一些實施例中，氮氧化微生物以每天兩次15 ml劑量投與，其中各劑量之濃度為 $10^9$  CFU/ml。

【0171】 在一些實施例中，氮氧化微生物每天投與一次、兩次、三次或四次。在一些實施例中，氮氧化微生物每週投與一次、兩次、三次、四次、五次或六次。在一些實施例中，氮氧化微生物在沐浴之後不久投與。在一些實施例中，氮氧化微生物在睡覺之前不久投與。

【0172】 在一些實施例中，氮氧化微生物投與約1-3、3-5、5-7、7-9、5-10、10-14、12-18、12-21、21-28、28-35、35-42、42-49、49-56、46-63、63-70、70-77、77-84、84-91天，例如約1個月、約2個月、約3個月。在一些實施例中，氮氧化微生物投與不定時間段，例如大於一年、大於5年、大於10年、大於15年、大於30年、大於50年、大於75年。

**【0173】****投與用於有害生物防治之氨氧化微生物**

根據一或多個實施例，本文所揭示之製劑及方法可用於目標位點之有害生物防治。

**【0174】** 有效量之包含氨氧化微生物之製劑可鄰近目標位點投與，藉此在目標位點提供有害生物防治。製劑可根據本文所揭示之各種模式，例如局部、經鼻內或經由吸入投與。

**【0175】** 目標位點可與例如作物田之環境、例如房屋之結構或例如人類或動物個體之個體有關。目標位點在投與之前可具有輕度、中度或重度有害生物滲入。目標位點可易於受有害生物滲入或具有有害生物滲入歷史。目標位點可與家庭或作物有害生物有關。

**【0176】** 根據一或多個實施例，可防治各種類型的有害生物。舉例而言，有害生物防治與目標位點之昆蟲、蟎、植物、嚙齒動物、動物或鳥類之防治有關。有害生物防治可與臭蟲、蟑螂、白蟻、螞蟻、嚙齒動物、蒼蠅、蚊子或跳蚤有關。

**【0177】** 製劑可在有害生物滲入發生期間在其減除之後在目標位點投與。製劑可回應於有害生物症狀、觸發或警告信號，例如環境因素而投與。製劑可作為鎮痛劑或預防劑投與。

**【0178】** 在一些實施例中，製劑可投與至個體之身體，例如至個體之臉部、頸部、頭皮、肢體、手部、足部、背部、腕部、軀幹、生殖器、會陰、腹部及胸部中之一或多者。個體可具有過敏或感染。在一些實施例中，製劑可在個體清潔或淋浴之前30、60、90、120、150或180分鐘投與。該製劑可在室外活動之前或之後向個體投與。

**【0179】** 有害生物防治可使得減少或抑制至少一種有害生物在目標位點之存在。提供有害生物防治可降低妨害、疾病、農業損害、生態損害或結構損害在目標位點之發生率。提供有害生物防治可包含自個體或目標位點驅除至少一種有害生物。在一些非限制性實施例中，個體或目標位點可在投與之後約24小時內自有害生物滲入恢復。

**【0180】** 根據一或多個實施例，揭示各種組合技術。該製劑可與習知，例如批准之有害生物防治途徑結合投與。該製劑可與機械、物理、耕種、化學、生物或檢疫措施組合投與。在至少一些實施例中，製劑可與殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、滅鼠劑、滅鳥劑或殺細菌劑組合投與。各種治療可同時或連續投與。

**【0181】** 根據一或多個實施例，在美容及治療兩方面，任何有害生物防治可能相關於、輔助或產生各種局部或全身性適應症之治療、抑制或預防。氮氧化微生物組合物可例如以適合於提供各種局部治療性治療或全身治療性治療之形式投與。可用本文所揭示之組合物治療的局部病況之適合實例包括局部感染、炎症及與其相關之症狀。局部病況可視預期沈積組織或目標組織而廣泛不同。可用本文所揭示之組合物治療的全身性病況之實例包括頭痛、心血管疾病、炎症、免疫反應及自體免疫病症、肝病、感染、神經疾病、精神病症、氧化氮病症、脈循環病症、擁塞、血管擴張病症、皮膚病、眼科病症、腸病症、聽覺疾病、傷口癒合、昆蟲叮咬反應、及某些病毒、細菌及真菌感染。

**【0182】** 舉例而言，可用本文所揭示之組合物治療的全身性病況包括心血管疾病，諸如心臟保護、心臟衰竭、高血壓、肺高血壓、肺動脈高血壓；免疫反應及自體免疫病症，諸如禿髮症及白斑病；肝病，諸如非酒

精性脂肪肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)；神經疾病及心理病症，諸如抑鬱症、失眠及糖尿病神經病變；氧化氮病症，諸如勃起功能障礙；傷口癒合，例如來自褥瘡及護理院護理；燒傷；糖尿病性潰瘍，例如足部潰瘍、下肢靜脈性潰瘍、生物膜及口瘡；皮膚病及病症，諸如多汗症、搔癢、雞眼及亞型雞眼；眼科病症，諸如瞼炎、乾眼、黃斑變性及青光眼；腸道病症，諸如麩質過敏性、大腸急躁症/發炎性腸病、克羅恩氏病(Crohn's disease)、結腸炎及壞死性小腸結腸炎；聽覺疾病，諸如耳鳴、聽力減弱、眩暈、搔癢、游泳耳(swimmer's ear)及先天性異常；以及血管擴張病症，諸如雷諾氏病(Renaud's disease)、溫度調節及偏頭痛。亦可治療各種結締組織病症。某些病毒、細菌及真菌感染可用本文所揭示之調配物治療，包括由人類乳頭狀瘤病毒(HPV)引起之感染、酵母菌感染、花斑癬、甲真菌病、足癬/真菌、股癬(tinea cruris)、股癬(jock itch)、甲癬、皮屑、香港腳、鼻竇炎、抗甲氧西林金黃色葡萄球菌(MRSA)、葡萄球菌、中耳炎、游泳耳及細菌性陰道炎。可用本文所揭示之組合物治療之其他全身性病況包括全身性炎症，諸如濕疹(例如成人及小兒濕疹)、蕁麻疹、特發性風疹、扁平苔癬、昆蟲叮咬(包括例如蚊蟲及頭蝨之昆蟲叮咬之過敏性反應)、野葛之反應、搔癢、毛囊角化病、喉炎、天庖瘡、牛皮癬、紅斑痤瘡、毛囊炎及亞型毛囊炎、化膿性汗腺炎、口周皮膚炎、狼瘡皮疹、脂溢性皮膚炎(例如成人及幼兒脂溢性皮膚炎)、痤瘡(例如青年痤瘡、成人痤瘡及囊性痤瘡)、尿布疹、職業性手部皮膚炎、曬傷及皮炎。另外，可遞送或施用本文所揭示之組合物以治療某些美容適應症，包括(但不限於)接觸性皮膚炎、尿布氣味(例如成人及小兒)、體臭、女性氣味、掉皮、指甲過硬、體臭、油性皮膚、剃刀灼傷、

皮膚外觀、皮膚斑點外觀、皮膚保濕及日曬斑。本文所揭示之組合物可作為驅蟲劑或抗微生物劑施用。

**【0183】** 根據一或多個實施例，如本文所揭示之製劑、裝置及/或套組可經提供用於有害生物防治。該等製劑、裝置及/或套組可與如本文所揭示之用於有害生物防治之方法結合使用。

#### **【0184】**

### **藉由投與氨氧化微生物使用微生物群落相容產品**

微生物群落相容產品可與本文所揭示之製劑及方法結合使用。各種產品可視為「生物群落友好」或「生物群落相容」。生物群落友好產品之實例揭示於國際(PCT)專利申請公開案第WO2017/004534號(2016年7月1日申請之國際(PCT)專利申請案第PCT/US/2016/040723號)中，其在此以全文引用的方式併入本文中所有目的。一些生物群落友好產品可在本質上為美容或治療性的。根據一或多個實施例，生物群落友好產品可與微生物，例如非病原性微生物，例如氨氧化微生物組合使用，其可繼而以製劑或組合物形式用於施用至個體。本文所揭示之氨氧化組合物可與生物群落友好或生物群落相容產品結合投與用於美容或治療適應症。

**【0185】** 根據一或多個實施例，例如用於美容或治療用途之包含氨氧化微生物之製劑、組合物、調配物或產品本身可被認為係生物群落友好的。在其他實施例中，包含氨氧化微生物之製劑可與生物群落友好產品結合使用。在一些實施例中，包含氨氧化微生物之製劑可與生物群落友好產品混合或以其他方式同時投與。在其他實施例中，包含氨氧化微生物之製劑可與生物群落友好產品相異或分離，但可能與其結合使用。在一些實施例中，單獨使用生物群落友好產品。與生物群落友好產品結合使用之氨氧

化微生物組合物製劑可經調配用於美容或醫療用途。

**【0186】** 生物群落友好或生物群落相容產品可與經調配用於任何遞送模式，例如經調配用於靶向遞送至個體(例如向個體之目標組織、區域、系統或器官)之氨氧化微生物製劑結合使用。舉例而言，待與生物群落友好產品結合使用之氨氧化微生物製劑可經調配用於遞送至個體之眼睛、耳朵、鼻子、泌尿生殖系統、呼吸系統或胃腸道系統。在一些實施例中，與生物群落友好產品一起使用之氨氧化微生物組合物可經調配用於基於個體之病況或病症而靶向遞送。舉例而言，用於靶向遞送之調配物可基於有待達成之所需局部或全身效應，例如局部或全身治療或美容效應。

**【0187】** 可與本發明一起使用之生物群落友好美容產品可為或包括或置於以下中之任一者或多者中：嬰兒產品，例如嬰兒洗髮劑、嬰兒潤膚乳、嬰兒油、嬰兒爽身粉、嬰兒潤膚霜；沐浴製劑，例如浴油、浴錠、浴鹽、泡泡浴、浴囊；眼妝製劑，例如眉筆、眼線、眼影、眼用洗劑、眼部卸妝液、睫毛膏；芳香製劑，例如古龍水、化妝水、香水、香粉(敷粉及滑石粉)、香囊；髮用製劑，例如護髮素、髮膠、直髮劑、捲髮劑(permanent wave)、沖洗液、洗髮劑、滋養劑、美髮劑、順髮劑、捲髮液；染髮製劑，例如染髮劑及染色劑、頭髮染色劑、染色頭髮清洗劑、染色頭髮洗髮劑、有色頭髮漂白劑、頭髮漂白劑；化妝製劑，例如蜜粉、粉底、腿部及身體底彩、口紅、打底霜、胭脂、定妝粉；美甲製劑，例如底塗層及下塗層、角皮軟化劑、護甲霜及護甲乳、指甲增長劑、指甲光澤劑及指甲油、指甲光澤劑及指甲油去除劑；口腔衛生產品，例如牙膏、漱口水及口氣清新劑；浴皂，例如起泡身體清潔劑及洗滌劑、除臭劑、灌洗劑、女性衛生除臭劑；剃鬚製劑，例如鬚後乳、鬚鬚軟化劑、滑石粉、鬚

前乳、剃鬚膏、剃鬚皂；護膚製劑，例如清潔劑、脫毛劑、面部及頸部、身體及手部、足部粉末及噴霧、保濕劑、夜用製劑、膏狀面膜、爽膚水；以及防曬製劑，例如防曬露、防曬霜及防曬液，以及室內美黑製劑。

**【0188】** 如本文所描述之產品，例如微生物群落相容美容產品，例如洗髮劑、護髮素及清潔劑可與病況、疾病或病症治療結合使用。此等美容產品可出於治療或美容目的與氨氧化微生物之投與結合使用。舉例而言，在向個體投與氨氧化細菌之整個治療期或美容期內，可使用微生物群落相容美容產品。微生物群落相容美容產品可在經由向個體投與氨氧化細菌開始治療或美容病況之治療之前使用一段時間。微生物群落相容美容產品可在經由向個體投與氨氧化細菌開始治療或美容病況之治療之後使用一段時間。微生物群落相容美容產品可在經由向個體投與氨氧化細菌進行病況之治療或美容治療中斷之後使用一段時間。

**【0189】** 在一些實施例中，個體可施用一或多種美容產品，且在投與氨氧化微生物之前等待一段時間。在其他實施例中，個體可投與氨氧化微生物，且在施用一或多種美容產品之前等待一段時間。

**【0190】** 在施用一或多種美容產品之後及在投與氨氧化微生物之前，個體可等待之時間段可為約1分鐘、5分鐘、10分鐘、15分鐘、20分鐘、25分鐘、30分鐘、45分鐘、60分鐘、90分鐘、120分鐘、或3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、12小時、18小時、24小時。

**【0191】** 在投與氨氧化微生物之後及在施用一或多種美容產品之前，個體可等待之時間段可為約1分鐘、5分鐘、10分鐘、15分鐘、20分鐘、25分鐘、30分鐘、45分鐘、60分鐘、90分鐘、120分鐘、或3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、12小時、18小時、24小時。

**【0192】** 雖然本發明之具體實施例已加以論述，但以上說明書具說明性而非限制性。熟習此項技術者在審閱本說明書及下述申請專利範圍後，將顯而易知本發明之諸多變化形式。本發明之完整範疇以及其等效物之完整範疇，及說明書，以及此類變化形式，應參照申請專利範圍確定。

**【0193】** 某些實施例在以下申請專利範圍之範疇內。



201920649

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

用於有害生物之防治之氨氧化微生物

### 【英文發明名稱】

AMMONIA OXIDIZING MICROORGANISMS FOR USE IN PEST CONTROL

### 【中文】

本文提供一種在目標位點提供有害生物防治之方法。該方法包含鄰近於該目標位點投與有效量之包含氨氧化微生物之製劑，藉此在該目標位點提供有害生物防治。本發明亦提供相關製劑、套組及裝置。

### 【英文】

A method of providing pest control at a target site is provided. The method comprises administering an effective amount of a preparation comprising ammonia oxidizing microorganisms proximate the target site, thereby providing pest control at the target site. Related preparations, kits, and devices are also provided.

### 【指定代表圖】

無

### 【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明申請專利範圍】

### 【第1項】

一種在目標位點提供有害生物防治之方法，其包含：  
鄰近於該目標位點投與有效量之包含氨氧化微生物(AOM)之製劑，  
藉此在該目標位點提供有害生物防治。

### 【第2項】

如前述請求項中任一項之方法，其中該有害生物防治與該目標位點之昆蟲、蟎、植物、嚙齒動物、動物或鳥類之防治有關。

### 【第3項】

如前述請求項中任一項之方法，其中提供有害生物防治包含減少或抑制至少一種有害生物品種在該目標位點之存在。

### 【第4項】

如前述請求項中任一項之方法，其中提供有害生物防治降低目標位點之滋擾、疾病、農業損害、生態損害或結構損害之發生率。

### 【第5項】

如前述請求項中任一項之方法，其中該目標位點在投與之前具有輕度有害生物滲入。

### 【第6項】

如前述請求項中任一項之方法，其中該目標位點在投與之前具有中度或重度有害生物滲入。

### 【第7項】

如前述請求項中任一項之方法，其中該目標位點係與家庭或作物有害生物有關。

**【第8項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該目標位點易於受有害生物滲入及/或具有有害生物滲入歷史。

**【第9項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係在有害生物滲入之前投與。

**【第10項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係在有害生物滲入發生期間投與。

**【第11項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係在有害生物滲入減除之後投與。

**【第12項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係經投與以回應於有害生物症狀、觸發或警告信號，例如環境因素。

**【第13項】**

如前述請求項中任一項之方法，其進一步包含判定該目標位點是否需要有害生物防治。

**【第14項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該目標位點與人類個體或動物個體有關。

**【第15項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該有害生物防治與臭蟲、蟻

螂、白蟻、螞蟻、嚙齒動物、蒼蠅、蚊子或跳蚤有關。

**【第16項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係向人類個體或動物個體投與。

**【第17項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係在該個體清潔或沐浴之前30、60、90、120、150或180分鐘投與。

**【第18項】**

如前述請求項中任一項之方法，其進一步包含鄰近該目標位點投與第二量之該製劑。

**【第19項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑經局部投與。

**【第20項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係投與至該個體之身體，例如投與至該個體之臉部、頸部、頭皮、肢體、手部、足部、背部、臀部、軀幹、生殖器、會陰、腹部及胸部中之一或多者。

**【第21項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑經鼻內投與。

**【第22項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係經由吸入投與。

**【第23項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係以噴霧劑、氣溶膠或霧化劑形式投與。

**【第24項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係作為組合治療之部分投與。

**【第25項】**

如前述請求項中任一項之方法，其進一步包含與該製劑組合投與第二治療。

**【第26項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係在起始該第二治療之前投與一段時間。

**【第27項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係與該第二治療同時投與。

**【第28項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係在停止該第二治療之後投與一段時間。

**【第29項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係與機械、物理、耕種、化學、生物或檢疫措施組合投與。

**【第30項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係與殺昆蟲劑、除草劑、殺真菌劑、滅鼠劑、滅鳥劑或殺細菌劑組合投與。

**【第31項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係與亞硝酸鹽、硝酸鹽

及/或例如吸入NO之NO結合投與。

**【第32項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該第二治療係經口、皮下、靜脈內或肌肉內投與。

**【第33項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體具有治療性水準之第二治療。

**【第34項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該有效量為AOM之治療有效劑量。

**【第35項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中AOM之該治療有效劑量為約或大於約 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{11}$ 、 $1 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{13}$ 或 $1 \times 10^{14}$  CFU。

**【第36項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係作為鎮痛劑投與。

**【第37項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係作為預防劑投與。

**【第38項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係自我投與的。

**【第39項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體具有過敏或感染。

**【第40項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑每天投與約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24次。

**【第41項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係投與約1至3、3至5、5至7、7至9、5至10、10至14、12至18、12至21、21至28、28至35、35至42、42至49、49至56、46至63、63至70、70至77、77至84或84至91天。

**【第42項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體為女性。

**【第43項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體為男性。

**【第44項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體特徵為以下種族/人種中之一者：亞洲人、黑人或非裔美國人、西班牙裔或拉丁裔、白人或多種族。

**【第45項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體為動物個體。

**【第46項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體特徵為脊椎動物或哺乳動物。

**【第47項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體特徵為非人類靈長類動物、家養動物、農業上有用之動物或研究用動物。

**【第48項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體特徵為農業上有用之動物，例如綿羊、狗、貓、牛、豬、馬或山羊。

**【第49項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體特徵為研究用動物，例如小鼠、大鼠、家兔、狗、貓或豬。

**【第50項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體之年齡小於1歲，或在1至5、5至10、10至20、20至30、30至40、40至50、50至60歲之間，或超過60歲。

**【第51項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑包含含AOM之緩衝溶液，例如緩衝水溶液。

**【第52項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該緩衝溶液，例如緩衝水溶液包含磷酸二鈉及氯化鎂之水溶液，例如50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 及2 mM  $\text{MgCl}_2$ 。

**【第53項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該緩衝溶液，例如緩衝水溶液本質上由磷酸二鈉及氯化鎂之水溶液組成，例如50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 及2 mM  $\text{MgCl}_2$ 。

**【第54項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該緩衝溶液，例如緩衝水溶液由磷酸二鈉及氯化鎂之水溶液組成，例如50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 及2 mM

MgCl<sub>2</sub>。

**【第55項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑包含氨、銨鹽及脲中之至少一者。

**【第56項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑包含控制釋放物質，例如緩慢釋放物質。

**【第57項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑進一步包含賦形劑，例如醫藥學上可接受之賦形劑。

**【第58項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該賦形劑為界面活性劑。

**【第59項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係在室外活動之前或之後向該個體投與。

**【第60項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該賦形劑包含抗黏劑、黏合劑、包衣、崩解劑、填充劑、調味劑、著色劑、潤滑劑、助流劑、吸附劑、防腐劑、螯合劑或甜味劑。

**【第61項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑基本上不含其他生物體。

**【第62項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑經提供為液體、液滴、粉末、固體、乳膏、洗劑、凝膠、棒狀物、氣溶膠、噴霧劑、霧化劑、油膏、擦拭物或繃帶。

**【第63項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑包含保濕劑、除臭劑、香味劑、著色劑、驅蟲劑、清潔劑或UV阻斷劑。

**【第64項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑包含約 $1 \times 10^3$  CFU/mL至約 $1 \times 10^{14}$  CFU/mL之間的AOM。

**【第65項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑包含約 $1 \times 10^9$  CFU/mL至約 $10 \times 10^9$  CFU/mL之間的AOM。

**【第66項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM包含氨氧化細菌(AOB)。

**【第67項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM本質上由AOB組成。

**【第68項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM由AOB組成。

**【第69項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM包含亞硝化單胞菌屬、亞硝化球菌屬、亞硝化螺菌屬、亞硝化囊菌屬、亞硝化葉菌屬、亞硝化弧菌屬及其組合。

**【第70項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM為富養亞硝化單胞菌(*N. eutropha*)。

**【第71項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM為富養亞硝化單胞菌D23，其具有ATCC寄存編號PTA-121157。

**【第72項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM包含氨氧化古菌(AOA)。

**【第73項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該AOM能夠以至少約1 pmol/min/mg蛋白質之速率將氨或銨轉化成亞硝酸鹽，例如至少約0.1 nmol/min/mg蛋白質。

**【第74項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中提供有害生物防治包含自該個體或該目標位點驅除至少一種有害生物品種。

**【第75項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體或該目標位點在投與之後約24小時內自有害生物滲入恢復。

**【第76項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中目標百分比之投與AOM係經傳遞至該個體或該目標位點。

**【第77項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係與消炎劑結合投與。

**【第78項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑係與習知例如經批准之有害生物防治途徑結合投與。

**【第79項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該個體或該目標位點具有經破壞之微生物群落。

**【第80項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中該製劑進一步包含促進該AOM生長或代謝、NO產生及/或脲酶活性之化合物或與該化合物同時投與。

**【第81項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中生物群落友好產品係與包含AOM之該投與製劑結合使用。

**【第82項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中投與該有效量之該製劑改變或更改該個體或該目標位點(例如目標組織處或循環)中之亞硝酸鹽或NO的含量。

**【第83項】**

如前述請求項中任一項之方法，其中投與該有效量之該製劑製劑調節與該個體或該目標位點相關之微生物群落。

**【第84項】**

一種如前述請求項中任一項所述之包含AOM之製劑，其用於有害生物防治。

**【第85項】**

如前述請求項中任一項之製劑，其中該製劑經包裝用於單次使用。

**【第86項】**

如前述請求項中任一項之製劑，其中該製劑經包裝用於多次使用。

**【第87項】**

如前述請求項中任一項之製劑，其包含AOM及其他生物體，例如生物體群落。

**【第88項】**

一種裝置，其用於向日標位點投與如前述請求項中任一項所述之包含AOM之製劑以用於有害生物防治。

**【第89項】**

如前述請求項中任一項所述之用於投與包含AOM之製劑的裝置，其中該裝置包含經該製劑預處理之衣物或配件。

**【第90項】**

如前述請求項中任一項所述之用於投與包含AOM之製劑的裝置，其中該裝置為以供人類個體使用之衣物或配件，例如襯衫、褲子、裙子、夾克、鞋襪、頭飾、內衣、手環、項鍊、手錶或耳環。

**【第91項】**

如前述請求項中任一項所述之用於投與包含AOM之製劑的裝置，其中該裝置為以供動物個體使用之衣物或配件，例如襯衫、頸圈、馬具、皮帶繩、馬鞍座氈或馬鞍。

**【第92項】**

一種套組，其包含如前述請求項中任一項所述之包含AOM之製劑，用於有害生物防治。