



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 35/74 (2020.02); A61P 17/10 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2018103906, 01.07.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.07.2016

Дата регистрации:
11.08.2021

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

02.07.2015 US 62/188,343;

06.07.2015 US 62/189,105;

13.10.2015 US 14/882,284

(43) Дата публикации заявки: 05.08.2019 Бюл. № 22

(45) Опубликовано: 11.08.2021 Бюл. № 23

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 02.02.2018

(86) Заявка РСТ:
US 2016/040756 (01.07.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2017/004557 (05.01.2017)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

УИТЛОК, Дэвид, Р. (US),

ДЖАМАС, Спирос (US),

ВАЙСС, Ларри (US)

(73) Патентообладатель(и):

АОБИОМ ЛЛК (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 03057380 A2, 17.07.2003. WO 02/
13982 A1, 21.02.2002. WO 2005030147 A2,
07.04.2005. RU 2613708 C2, 21.03.2017.

СКРИПКИН Ю.К. Кожные и венерические
болезни// М., 2000, "Триада-Х", с.462-463.

DRENO B. et al. The role of topical
dermocosmetics in acne vulgaris// J Eur Acad
Dermatol Venereol. 2016 Jun;30(6):926-3.

(54) ОКИСЛЯЮЩИЕ АММИАК БАКТЕРИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ УГРЕВОЙ СЫПИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к дерматологии, и может быть использовано для лечения воспалительных и невоспалительных угревых очагов у индивидуума. Для этого на кожу индивидуума в форме спрея, аэрозоля или дымки наносят терапевтически эффективное количество препарата, содержащего живые окисляющие

аммиак бактерии. Способ позволяет повысить эффективность лечения воспалительных и невоспалительных угревых очагов за счет конвертации аммиака пота в окисленный нитрит и оксид азота при его безопасности. 15 з.п. ф-лы, 4 ил., 17 табл., 2 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 35/74 (2015.01)
A61P 17/10 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 35/74 (2020.02); A61P 17/10 (2020.02)

(21)(22) Application: **2018103906, 01.07.2016**

(24) Effective date for property rights:
01.07.2016

Registration date:
11.08.2021

Priority:

(30) Convention priority:
02.07.2015 US 62/188,343;
06.07.2015 US 62/189,105;
13.10.2015 US 14/882,284

(43) Application published: **05.08.2019 Bull. № 22**

(45) Date of publication: **11.08.2021 Bull. № 23**

(85) Commencement of national phase: **02.02.2018**

(86) PCT application:
US 2016/040756 (01.07.2016)

(87) PCT publication:
WO 2017/004557 (05.01.2017)

Mail address:
129090, Moskva, ul. B.Spasskaya, 25, stroenie 3,
OOO "Yuridicheskaya firma Gorodisskij i
Partnery"

(72) Inventor(s):

WHITLOCK, David, R. (US),
JAMAS, Spiros (US),
WEISS, Larry (US)

(73) Proprietor(s):

AOBIOME LLC (US)

(54) AMMONIA OXIDISING BACTERIA FOR ACNE TREATMENT

(57) Abstract:

FIELD: medicine; dermatology.

SUBSTANCE: invention can be used for treating inflammatory and non-inflammatory acne lesions in an individual. That is ensured by applying a therapeutically effective amount of a preparation containing live ammonia-oxidising bacteria onto the individual's skin

in the form of a spray, aerosol or haze.

EFFECT: method provides higher clinical effectiveness in inflammatory and non-inflammatory acne lesions by converting ammonia sweat into oxidised nitrite and nitrogen oxide with safety.

16 cl, 4 dwg, 17 tbl, 2 ex

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка является частичным предложением международной патентной заявки № PCT/US2015/025909, поданной 15 апреля 2015 года, по которой испрашивается приоритет патентной заявке Греции под номером 20140100217, поданной 15 апреля 2014 года, временной заявке США под номером 62/002084, поданной 22 мая 2014 года, временной заявке США под номером 62/012811, поданной 16 июня 2014 года, временной заявке США под номером 62/053588, поданной 22 сентября 2014 года, и патентной заявке Греции под номером 20150100115, поданной 13 марта 2015 года, содержание которых включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. По настоящей заявке также испрашивается приоритет временной заявке США под номером 62/188343, поданной 2 июля 2015 года, и временной заявке США под номером 62/189105, поданной 6 июля 2015 года.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Полезные бактерии можно использовать для подавления роста патогенных бактерий.

Бактерии и другие микроорганизмы являются повсеместными во внешней среде. Открытие патогенных бактерий и микробная теория заболеваний имели огромный эффект на здоровье и болезненные состояния. Бактерии являются нормальной частью внешней среды всех живых организмов. В кишечнике эти бактерии являются непатогенными в нормальных условиях и, на самом деле, улучшают состояние здоровья, делая нормальное содержимое кишечника менее восприимчивым к организмам, вызывающим заболевания. Предупреждение заболеваний осуществляется рядом способов: питательные вещества расходуются, оставляя меньше для патогенов; обеспечиваются условия, такие как pH и давление кислорода, которые не являются благоприятными для патогенов; продуцируются соединения, которые являются токсичными для патогенов; патогены расходуются в качестве пищи этими микроорганизмами; остается меньше доступного для патогенов физического пространства; и занимают специфические участки связывания, оставляя меньше участков связывания, доступных для патогенов. Присутствие этих желаемых бактерий представляется полезным для профилактики болезненных состояний.

В данной области существует потребность в усовершенствованных полезных бактериях, которые могут подавлять рост патогенных бактерий, например, для лечения кожных состояний, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей.

Угревая сыпь является наиболее распространенным кожным заболеванием и наиболее частой сообщаемой причиной посещения дерматологов, составляя приблизительно четверть количества пациентов дерматологов в США. Традиционно считающаяся незначительным, "нормальным" состоянием, угревая сыпь недавно была переопределена с медицинской точки зрения как хроническое заболевание, которое может значительно влиять на качество жизни индивидуума социальным, психологическим и эмоциональным воздействием, которое сравнимо с воздействием, сообщаемым пациентами с эпилепсией, астмой, диабетом или артритом. Только в США угревая сыпь имеется приблизительно у 40-50 миллионов человек, 20-25% страдают от угревой сыпи от умеренной до тяжелой. Продажи в США 10 основных фирменных терапевтических средств против угревой сыпи имеют оборот 3 миллиарда долларов и включают 1,5 миллиарда долларов на системные ретиноиды, 700 миллионов долларов на пероральные антибиотики, 600 миллионов долларов на местные антибиотики и 240 миллионов долларов на местные ретиноиды. В мире распространенность угревой сыпи составляет приблизительно 80% среди подростков и 50% среди молодых взрослых людей. Несмотря на значительные расходы на назначаемые и отпускаемые без рецепта лекарственные средства, угревая

сыпь остается областью значительной неудовлетворенной медицинской потребности, поскольку способы лечения либо являются малоэффективными (местные антибиотики, местные ретиноиды, сужающие поры средства) и/либо ассоциированы с серьезным риском (пероральные ретиноиды). В дополнение к потребности в безопасном и эффективном продукте для предупреждения и лечения воспалительных и невоспалительных угревых очагов, остается существенная неудовлетворенная потребность и коммерческая возможность для местной терапии, которая нацелена на избыток продукции кожного сала.

Таблица 1.

Тяжесть угревой сыпи	Мягкая		Умеренная		Тяжелая
	Комедонные черные точки/белые точки	Смешанная и папулезная/пустулезная	Узелковая		Узелковая/ сферическая
Первая линия	Местный ретиноид	Местный ретиноид+ местное противомикробное средство	Пер-оральный антибиотик+местный ретиноид +/- бензоилпероксид	Пер-оральный антибиотик+местный ретиноид +/- бензоил-пероксид	Пероральный изотретиноин ³
Вторая линия/ альтер-нативы ¹	Альтер-нативный местный ретиноид, или азелаиновая кислота, или салициловая кислота	Альтер-нативный местный ретиноид; противомикробное средство+альтер-нативный местный ретиноид или азелаиновая кислота	Альтер-нативный пер-оральный антибиотик+альтер-нативный местный ретиноид +/- бензоилпероксид	Пероральный изотретиноин или альтер-нативный пероральный антибиотик+альтер-нативный местный ретиноид +/- бензоил-пероксид, азелаиновая кислота	Пероральный антибиотик в высокой дозе+местный ретиноид+бензоил пероксид
Альтер-нативы для женщин ^{1,4}	См. варианты первой линии	См. варианты первой линии	Пер-оральный антиандроген ⁵ +местный ретиноид/ азелаиновая кислота +/- местное противомикробное средство	Пероральный антиандроген ⁵ +местный ретиноид/ азелаиновая кислота +/- местное противомикробное средство	Пероральный антиандроген в высокой дозе+местный ретиноид +/- альтер-нативное местное противомикробное средство
Поддерживающая терапия:	Местный ретиноид		Местный ретиноид +/-бензоилпероксид		

Источник: глобальные данные; по материалам AcneAcademy, 2010.

1 - возможность физического удаления комедонов; 2 - с небольшими узелками (<0,5 см); 3 - второй курс в случае рецидива; 4 - для беременности возможности ограничены; 5 - для дополнительной информации см. Gollnick et al., 2003.

Идеальный искомый продукт может иметь одно или несколько из следующих свойств: самостоятельно вводимый (например, один раз в сутки, например, два раза в сутки); не имеющий запаха, не имеющий цвета и невидимый; не ассоциированный с повышенной чувствительностью к солнечному свету; безопасный, нетоксичный при приеме внутрь/вдыхании и хорошо переносимый на коже, соседних слизистых оболочках и глазах; пригодный как для лечения, так и для поддерживающей терапии без риска возникновения резистентности к антибиотикам; и действует локально для (в порядке убывания приоритета): снижения частоты очагов повреждения (антибиотик, противовоспалительное средство); уменьшения длительности очагов повреждения (улучшенное заживления); уменьшения воспаления очагов повреждения (противовоспалительное средство); потенциального предупреждения или снижения аберрантной пигментации и рубцевания (улучшенное заживление); скорости заживления поврежденной кожи (улучшенное заживление); уменьшения выработки избыточного кожного сала; и уменьшения присутствия патогенных бактерий (антибиотик).

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способу лечения кожного нарушения, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, у индивидуума. Способ включает введение, например, нанесение, например, местное введение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата, содержащего окисляющие аммиак бактерии, на

поверхность тела индивидуума.

В некоторых вариантах осуществления количество и частота введения, например, нанесения, являются достаточными для уменьшения количества или концентрации патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*, на поверхности тела индивидуума. В некоторых случаях количество представляет собой терапевтически эффективную дозу окисляющих аммиак бактерий. В некоторых случаях кожное нарушение представляет собой угревую сыпь, например, обыкновенные угри.

В некоторых вариантах осуществления введение обеспечивает лечение воспалительных очагов, например, папул, пустул, кист/узелков. В некоторых вариантах осуществления введение обеспечивает лечение невоспалительных очагов, например, открытых комедонов, закрытых комедонов. В некоторых вариантах осуществления введение обеспечивает лечение или улучшение очагов поствоспалительной гиперпигментации/поствоспалительной эритемы (PIH/PIE). В некоторых вариантах осуществления введение обеспечивает лечение или улучшение одного или нескольких из эритемы, отека, шелушения, покаяывания, жжения и зуда. В некоторых вариантах осуществления введение обеспечивает лечение или улучшение одного или нескольких из жирного внешнего вида, внешнего вида пор, сияния, наличия пятен, равномерности цвета кожи, визуальной гладкости и тактильной гладкости. В некоторых вариантах осуществления введение обеспечивает лечение или улучшение результатов измерений на Sebumeter.

В некоторых вариантах осуществления введение включает предварительную обработку индивидуума окисляющими аммиак бактериями. В некоторых вариантах осуществления местное введение включает местное введение до возникновения кожного нарушения. В некоторых вариантах осуществления местное введение включает местное введение индивидууму эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий. В некоторых случаях эффективная доза составляет приблизительно $0,1 \times 10^9$, $0,2 \times 10^9$, $0,3 \times 10^9$, $0,4 \times 10^9$, $0,5 \times 10^9$, $0,6 \times 10^9$, $0,7 \times 10^9$, $0,8 \times 10^9$, $0,9 \times 10^9$, $1,0 \times 10^9$, $1,2 \times 10^9$, $1,4 \times 10^9$, $1,5 \times 10^9$, $1,6 \times 10^9$, $1,8 \times 10^9$, $2,0 \times 10^9$, $2,2 \times 10^9$, $2,4 \times 10^9$, $2,6 \times 10^9$, $2,8 \times 10^9$, $3,0 \times 10^9$, $3,2 \times 10^9$, $3,4 \times 10^9$, $3,6 \times 10^9$, $3,8 \times 10^9$, $4,0 \times 10^9$, $4,2 \times 10^9$, $4,4 \times 10^9$, $4,6 \times 10^9$, $4,8 \times 10^9$, $5,0 \times 10^9$, $5,5 \times 10^9$, $6,0 \times 10^9$, $6,5 \times 10^9$, $7,0 \times 10^9$, $7,5 \times 10^9$, $8,0 \times 10^9$, $8,5 \times 10^9$, $9,0 \times 10^9$, $9,5 \times 10^9$, $10,0 \times 10^9$, 12×10^9 , 14×10^9 , 16×10^9 , 18×10^9 , 20×10^9 , 25×10^9 , 30×10^9 , 40×10^9 , 50×10^9 к.о.е.

В некоторых вариантах осуществления кожное нарушение находится в заданной области индивидуума и содержит одну или несколько нежелательных бактерий, например, патогенных бактерий. в некоторых случаях заданная область содержит *Propionibacterium acnes*.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает определение того, нуждается ли индивидуум в лечении кожного нарушения, например, определение того, нуждается ли индивидуум в лечении угревой сыпи, например, обыкновенных угрей. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выбор индивидуума, нуждающегося в лечении кожного нарушения.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, препарат, содержащий окисляющие аммиак бактерии, могут быть в форме, которая может быть способной к аэрозолированию, разбрызгиванию или распылению, т.е. в форме дымки. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, препарат, можно наносить в качестве аэрозоля или дымки, например, в водной среде. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии,

например, препарат окисляющих аммиак бактерий, могут представлять собой окисляющие аммиак бактерии в буферном растворе, например, водном буферном растворе. В некоторых случаях буферный раствор, например, водный буферный раствор, содержит дифосфат натрия и хлорид магния, например, 50 мМ Na_2HPO_4 и 2 мМ MgCl_2 , в воде. В некоторых случаях буферный раствор, например, водный буферный раствор, по существу состоит из дифосфата натрия и хлорида магния, например, 50 мМ Na_2HPO_4 и 2 мМ MgCl_2 , в воде. В некоторых случаях буферный раствор, например, водный буферный раствор, состоит из дифосфата натрия и хлорида магния, например, 50 мМ Na_2HPO_4 и 2 мМ MgCl_2 , в воде.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выбор индивидуума исходя из потребности индивидуума в уменьшении количества или концентрации патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*, на поверхности тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят самостоятельно.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии наносят на любое одно или несколько из лица, шеи и кожи черепа индивидуума.

В некоторых вариантах осуществления препарат содержит по меньшей мере одно из аммиака, соли аммония и мочевины. В некоторых случаях препарат содержит материал с контролируемым высвобождением, например, материал с замедленным высвобождением. В некоторых случаях препарат окисляющих аммиак бактерий, кроме того, содержит эксципиент, например, один из фармацевтически приемлемого эксципиента или приемлемого с косметической точки зрения эксципиента. В некоторых случаях эксципиент, например, один из фармацевтически приемлемого эксципиента и приемлемого с косметической точки зрения эксципиента, представляет собой поверхностно-активное вещество. В некоторых случаях препарат по существу свободен от других организмов. В некоторых случаях препарат находится в порошке, косметическом средстве, креме, карандаше, аэрозоле, например, дымке, мази, салфетки или повязки. В некоторых случаях препарат предоставлен в качестве порошка, косметического средства, крема, карандаша, аэрозоля, например, дымки, мази, салфетки или повязки. В некоторых случаях препарат содержит увлажняющее средство, дезодорирующее средство, отдушку, краситель, репеллент, очищающее средство или УФ-блокирующее средство. В некоторых случаях эксципиент, например, фармацевтически приемлемый эксципиент или приемлемый с косметической точки зрения эксципиент, содержит антиадгезив, связующее вещество, покрытие, разрыхлитель, наполнитель, вкусовую добавку, краситель, смазывающее вещество, вещество, способствующее скольжению, сорбирующий консервант или подсластитель.

В некоторых случаях препарат, содержащий окисляющие аммиак бактерии, содержит от приблизительно 10^8 до приблизительно 10^{14} к.о.е./л. В некоторых случаях препарат, содержащий окисляющие аммиак бактерии, содержит от приблизительно 10^8 до приблизительно 10^{14} к.о.е./мл. В некоторых случаях препарат содержит от приблизительно 1×10^9 к.о.е./л до приблизительно 10×10^9 к.о.е./л. В некоторых случаях препарат содержит от приблизительно 1×10^9 к.о.е./мл до приблизительно 10×10^9 к.о.е./мл.

В некоторых вариантах осуществления препарат, содержащий окисляющие аммиак бактерии, содержит от приблизительно 50 миллиграммов (мг) до приблизительно 1000 мг окисляющих аммиак бактерий. В некоторых случаях соотношение масс окисляющих

аммиак бактерий и эксципиента, например, фармацевтически приемлемого эксципиента или приемлемого с косметической точки зрения эксципиента, находится в диапазоне от приблизительно 0,1 грамма до приблизительно 1 грамма на литр.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии выбраны из группы, состоящей из *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* и их комбинаций. В некоторых случаях окисляющие аммиак бактерии представляют собой *Nitrosomonas eutropha* (*N. eutropha*). В некоторых случаях окисляющие аммиак бактерии представляют собой *N. eutropha* D23, имеющие номер доступа ATCC PTA-121157.

В некоторых вариантах осуществления препарат содержит организм, выбранный из группы, состоящей из *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacter* и их комбинаций.

В некоторых вариантах осуществления предусматривается способ доставки косметического продукта. В некоторых вариантах осуществления предусматривается способ доставки терапевтического продукта.

В некоторых вариантах осуществления препарат предоставляют в контейнере, причем препарат и контейнер имеют массу менее чем приблизительно 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 или 2000 граммов.

В некоторых вариантах осуществления препарат наносят приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 раз в сутки. В некоторых случаях препарат наносят один раз в сутки. В некоторых случаях препарат наносят два раза в сутки.

В некоторых вариантах осуществления препарат наносят в течение приблизительно 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 или 84-91 суток. В некоторых случаях препарат наносят в течение приблизительно 7 суток. В некоторых случаях препарат наносят в течение приблизительно 14 суток. В некоторых случаях препарат наносят в течение приблизительно 21 суток. В некоторых случаях препарат наносят в течение приблизительно 28 суток.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает получение образца с поверхности кожи. В некоторых случаях способ дополнительно включает выделение ДНК бактерий образца. В некоторых случаях способ дополнительно включает секвенирование ДНК бактерий в образце. В некоторых случаях бактерии представляют собой *Propionibacterium acnes*.

В некоторых вариантах осуществления введение окисляющих аммиак бактерий обеспечивает уменьшение уровня *Propionibacterium acnes*. В некоторых случаях уровень *Propionibacterium acnes* снижается, например, концентрация *Propionibacterium acnes* снижается, приблизительно через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 суток.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение, например, самостоятельное введение, одного или нескольких из шампуня, кондиционера и очищающего средства, например, средства для очистки лица. В определенных случаях любое одно или несколько из шампуня, кондиционера и средства для очистки лица наносят 1 раз в сутки. В определенных случаях используемый шампунь представляет собой образец 293178. В определенных случаях используемое очищающее средство представляет собой образец 293162. В определенных случаях по меньшей мере одно из шампуня, кондиционера и мыла используют после прекращения введения окисляющих аммиак бактерий. В определенных случаях по меньшей мере одно из шампуня, кондиционера и мыла используют после прекращения применения препарата

окисляющих аммиак бактерий.

В некоторых вариантах осуществления индивидуума оценивают до начала лечения, например, введения окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления индивидуума оценивают через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 суток; или 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 недель; или 2,3 лет, 4, или 5 лет после начала лечения, например, введения окисляющих аммиак бактерий.

В некоторых вариантах осуществления введения окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий, обеспечивает одно или несколько из следующих: уменьшает воспаление очагов повреждения, снижает частоту очагов повреждения и снижает присутствие патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*. В некоторых случаях введение препарата обеспечивает уменьшение воспаления очагов повреждения. В некоторых случаях введение препарата обеспечивает уменьшение воспаления очагов повреждения у взрослых индивидуумов. В некоторых случаях введение препарата обеспечивает уменьшение частоты очагов повреждения. В некоторых случаях введение препарата обеспечивает снижение присутствия патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*. В некоторых случаях введение препарата обеспечивает улучшение эмоциональной оценки индивидуумом его заболевания при определении с помощью опросника для оценки качества жизни Skindex16. В некоторых случаях введение препарата обеспечивает улучшение одного или нескольких из следующих: повреждение при кожном состоянии у индивидуума, наличие/повторное возникновение кожного состояния у индивидуума и внешние проявления кожного состояния индивидуума. В некоторых случаях введение препарата обеспечивает улучшение (снижение) одного или нескольких из следующих согласно клинической оценке: оценочные показатели визуальной и тактильной гладкости и наличия пятен.

В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является женщина. В других вариантах осуществления индивидуумом является мужчина. В некоторых случаях индивидуумом является индивидуум одной из следующих этнических принадлежностей/рас: азиатская, черная или афроамериканская, испанская или латиноамериканская, белая или многорасовая. В некоторых случаях индивидуум характеризуется как имеющий по меньшей мере один из следующих типов кожи: нормальная, жирная и комбинированная кожа. В некоторых случаях индивидуум характеризуется как имеющий один из следующих типов кожи по Фицпатрику: I, II, III, IV, V. В некоторых случаях угревая сыпь характеризуется как подростковая угревую сыпь. В некоторых случаях угревую сыпь характеризуется как взрослая угревая сыпь. В некоторых случаях возраст индивидуума составляет 12-15, 16-18, 19-28 или более 28.

В некоторых вариантах осуществления индивидууму проводят лечение угревой сыпи, выбранное из группы, состоящей из: местного ретиноида, азелаиновой кислоты, салициловой кислоты, местного противомикробного средства, перорального антибиотика, бензоилпероксида, перорального антиандрогена, перорального изотретиноина и их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления лечение угревой сыпи проводят в течение некоторого периода времени перед началом введения окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления лечение угревой сыпи продолжают на протяжении периода времени введения окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления лечение угревой сыпи проводят в течение некоторого периода времени перед началом введения окисляющих аммиак

бактерий и прекращают до начала введения окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления лечение угревой сыпи прекращают в ходе введения окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления лечение угревой сыпи продолжают на протяжении введения окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления лечение угревой сыпи начинают после прекращения введения окисляющих аммиак бактерий.

В некоторых вариантах осуществления введение происходит за 30, 60, 90, 120, 150, 180 минут до умывания индивидуума или приема им душа.

В некоторых вариантах осуществления предусматривается препарат, содержащий окисляющие аммиак бактерии, как описано выше или в любой части настоящего описания, для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей.

Изобретение предусматривает все комбинации любых одного или нескольких из вышеуказанных аспектов и/или вариантов осуществления, а также комбинации с любыми одним или несколькими из вариантов осуществления, указанных в подробном описании и примерах.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На фиг.1 представлено улучшение IGA с использованием окисляющих аммиак бактерий (АО+ дымка) на 4 неделе. Среднее изменение (%) нанесено на график против количества сообщений об улучшении и сообщений об ухудшении в группах АО+ дымки и плацебо.

На фиг.2А представлено улучшение персистирования кожного состояния с использованием окисляющих аммиак бактерий (АО+ дымка) на 4 неделе. Среднее изменение (%) нанесено на график против количества сообщений об улучшении и сообщений об ухудшении в группах АО+ дымки и плацебо.

На фиг.2В представлено улучшение внешних проявлений кожного состояния с использованием окисляющих аммиак бактерий (АО+ дымка) на 4 неделе. Среднее изменение (%) нанесено на график против количества сообщений об улучшении и сообщений об ухудшении в группах АО+ дымки и плацебо.

На фиг.3А представлено улучшение персистирования кожного состояния с использованием окисляющих аммиак бактерий (АО+ дымка) на 2, 4 и 6 неделях. Процентное улучшение (%) относительно исходного уровня нанесено на график против недели для групп АО+ дымки и плацебо.

На фиг.3В представлено улучшение внешних проявлений кожного состояния с использованием окисляющих аммиак бактерий (АО+ дымка) на 2, 4 и 6 неделях. Процентное улучшение (%) относительно исходного уровня нанесено на график против недели для групп АО+ дымки и плацебо.

На фиг.4 представлено уменьшение количества воспалительных очагов. Среднее изменение (%) нанесено на график для всех исследуемых индивидуумов и взрослых исследуемых индивидуумов в группах окисляющих аммиак бактерий (АО+ дымка) и плацебо.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение относится к способам лечения кожных состояний, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей. Способы включают введение индивидууму окисляющих аммиак бактерий, например, препарата, содержащего окисляющие аммиак бактерии.

Предусматриваются препараты, композиции и составы, например, включая ненатуральные продукты, натуральные продукты и обогащенные натуральные

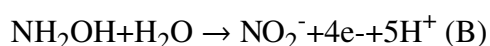
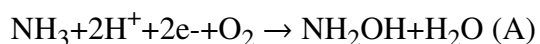
продукты, содержащие, по существу состоящие или состоящие из окисляющих аммиак бактерий, для применения для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей. Предусматриваются композиции для применения для лечения кожного состояния, например, обыкновенных угрей, например, угревой сыпи, у индивидуума, содержащие окисляющие аммиак бактерии, например, препарат, содержащий окисляющие аммиак бактерии.

Окисляющие аммиак бактерии (АОВ) рода *Nitrosomonas* представляют собой грамотрицательные облигатно-аутоотрофные бактерии с уникальной способностью генерировать нитриты и оксид азота исключительно из аммиака в качестве источника энергии. Они широко присутствуют как в почве, так и в водной среде, и являются неотъемлемыми компонентами процессов нитрификации окружающей среды. Благодаря ролям нитритов и оксида азота на коже человека в качестве важных компонентов нескольких физиологических функций, таких как расширение сосудов, воспаление кожи и заживление ран, эти бактерии могут иметь полезные свойства как для здоровья кожи, так и для иммунопатологических кожных состояний. Эти бактерии являются безопасными для применения у человека, поскольку они медленно растут, не могут расти на органических источниках углерода, могут быть чувствительными к мылам и антибиотикам и никогда не ассоциированы с какими-либо заболеваниями или инфекциями у животных или у человека.

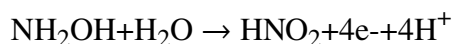
Окисляющие аммиак бактерии представляют собой повсеместно встречающиеся грамотрицательные облигатно-хемолитоавтотрофные бактерии с уникальной способностью генерировать энергию исключительно посредством преобразования аммиака в нитриты.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии катализируют следующие реакции.

При нейтральных значениях pH аммиак, образующийся из аммония при приблизительно нейтральных значениях pH, является субстратом первоначальной реакции. Преобразование аммиака в нитрит происходит на двух стадиях, катализируемых, соответственно, аммиакмонооксигеназой (Амо) и гидроксиламиноксидоредуктазой (Нао), следующим образом:



В некоторых случаях реакцию В представляют следующим образом, чтобы указать на образование азотистой кислоты (HNO_2) при низких значениях pH:



В определенных вариантах осуществления NH_4^+ и NH_3 могут использоваться взаимозаменяемо на протяжении описания.

Настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, например, препаратам, содержащим окисляющие аммиак бактерии, которые могут:

- уменьшать воспаление в очагах повреждения (например, у взрослых)
- уменьшать частоту очагов повреждения; и
- уменьшать присутствие патогенных бактерий

Окисляющие аммиак бактерии, например, препараты, содержащие окисляющие аммиак бактерии, также могут:

- уменьшать длительность повреждения
- предупреждать или уменьшать аберрантную пигментацию и рубцевание

- укорачивать период заживления поврежденной кожи; и
- уменьшать продукцию избыточного кожного сала (например, секрецию сальных желез).

Настоящее изобретение относится к препаратам, содержащим окисляющие аммиак бактерии, для применения для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, где препарат может иметь одно или несколько из следующих свойств: самостоятельно вводимый (например, 1-2 раза в сутки), не имеющий запаха, бесцветный, невидимый, не ассоциированный с увеличенной чувствительностью к солнечному свету, безопасный, нетоксичный, хорошо переносимый кожей (например, соседними слизистыми оболочками и глазами), подходящий для детей младше 12 лет и подходящий как для лечения, так и для поддерживающей терапии без риска индукции резистентности к антибиотикам.

Окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, например *N. eutropha*, обозначаемые как "D23", также известные как "B244" или "AOB D23-100", могут иметь несколько из описанных выше свойств.

1. Определения

Окисляющая аммиак бактерия относится к бактерии, способной окислять аммиак или аммоний в нитрит со скоростью, например, со значительной скоростью, например, с заданной скоростью. Скорость, например, заданная скорость, может относиться к преобразованию ионов аммония (NH_4^+) (например, в концентрации приблизительно 200 мМ) в нитрит (NO_2^-) со скоростью по меньшей мере 50, 75, 125 или 150 микромоль NO_2^- в минуту, например, приблизительно 100-150, 75-175, 75-125, 100-125, 125-150 или 125-175 микромоль/минута, например, приблизительно 125 микромоль NO_2^- в минуту. В вариантах осуществления скорость, например, заданная скорость, может относиться к преобразованию ионов аммония (NH_4^+) (например, в концентрации приблизительно 200 мМ) в нитрит (NO_2^-) со скоростью по меньшей мере 50, 75, 125 или 150 наномоль NO_2^- в минуту на мл, например, приблизительно 100-150, 75-175, 75-125, 100-125, 125-150 или 125-175 наномоль/минута/мл, например, приблизительно 125 наномоль NO_2^- в минуту на мл непрерывной культуры, например, имеющей OD приблизительно 0,5.

Примеры окисляющих аммиак бактерий включают штаммы *Nitrosomonas eutropha*, например D23 и C91, и другие бактерии родов *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus* и *Nitrosovibrio*. Штамм D23 *Nitrosomonas eutropha* относится к штамму, обозначаемому AOB D23-100, депонированному в American Tissue Culture Collection (ATCC) (10801 University Blvd., Manassas, VA, США) 8 апреля 2014 года, имеющему номер доступа РТА-121157. Последовательность(и) нуклеиновой кислоты, например, геномная последовательность под номером доступа РТА-121157, включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. В определенных вариантах осуществления *N. eutropha* представляет собой штамм, описанный в заявке РСТ № РСТ/US2015/025909, поданной 15 апреля 2015 года, включенной в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. "AOB D23-100" также на протяжении описания может быть обозначен как D23 или B244.

Каждая последовательность нуклеиновой кислоты и аминокислотная последовательность, описанная в заявке РСТ № РСТ/US2015/025909, поданной 15 апреля 2015 года, включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Любые

окисляющие аммиак бактерии, описанные в заявке РСТ № РСТ/US2015/025909, поданной 15 апреля 2015 года, включены в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Оптимизированные *Nitrosomonas eutropha* (*N. eutropha*), как этот термин используют в настоящем описании, относятся к *N. eutropha*, имеющим оптимизированную скорость роста, оптимизированную скорость окисления NH_4^+ или оптимизированную

резистентность к NH_4^+ . В одном варианте осуществления они отличаются от встречающихся в природе *N. eutropha* по меньшей мере одним нуклеотидом, например, нуклеотидом в гене, выбранном из аммиакмонооксигеназы,

гидроксиламиноксидоредуктазы, цитохрома с554 и цитохрома с_M552. Отличие может быть следствием, например, селекции спонтанно возникшей мутации, индуцированной мутации или направленной геной инженерии *N. eutropha*. В одном варианте осуществления они отличаются от встречающихся в природе *N. eutropha* тем, что они имеют совокупность аллелей, не присутствующую вместе в природе. Эти отличия могут обеспечивать одно или несколько из лечения или предупреждения кожного нарушения, лечения или предупреждения заболевания или состояния, ассоциированного с низкими уровнями нитритов, лечения или предупреждения запаха тела, лечения для предоставления оксида азота индивидууму и лечения для ингибирования роста микробов.

Как используют в рамках изобретения, "аксенический" относится к композиции, содержащей организм, который по существу свободен от других организмов. Например, аксеническая культура окисляющих аммиак бактерий представляет собой культуру, которая по существу свободна от организмов, отличных от окисляющих аммиак бактерий. Например, аксеническая культура *N. eutropha* представляет собой культуру, которая по существу свободна от организмов, отличных от *N. eutropha*. В некоторых вариантах осуществления "по существу свободный" означает не поддающийся обнаружению способом, используемым для обнаружения других организмов, например, посевом культуры и изучением морфологии колоний или ПЦР консервативного гена, такого как 16S РНК. Аксеническая композиция может содержать элементы, которые не являются организмами, например, она может содержать питательные вещества или эксципиенты. Любой вариант осуществления препарата, композиции или состава окисляющих аммиак бактерий, описанных в настоящем описании, может содержать, по существу состоять из или состоять из необязательно аксенических окисляющих аммиак бактерий.

На протяжении настоящего описания состав может относиться к композиции или препарату.

Как используют в рамках изобретения, "автотроф", например, автотрофная бактерия, представляет собой любой организм, способный к самостоятельному питанию с использованием неорганических материалов в качестве источника питательных веществ и с использованием фотосинтеза или хемосинтеза в качестве источника энергии.

Автотрофные бактерии могут синтезировать органические соединения из диоксида углерода и АТР, происходящих из других источников, окисления аммиака в нитрит, окисления сероводорода и окисления Fe^{2+} в Fe^{3+} . Автотрофные бактерии по настоящему изобретению не способны вызывать инфекцию.

Вводимый "в комбинации", как используют в рамках изобретения, означает, что два (или более) различных лекарственных средства вводят индивидууму, страдающему нарушением, например, два или более лекарственных средства вводят после диагностики

у индивидуума нарушения и до излечения или устранения нарушения. В некоторых вариантах осуществления доставка одного лекарственного средства все еще происходит, когда начинается доставка второго средства, так что происходит перекрывание. Это иногда называют в настоящем описании "одновременной", или "сопутствующей", или "совместной доставкой". В других вариантах осуществления доставка одного лекарственного средства оканчивается до начала доставки другого лекарственного средства. В настоящем описании это иногда называется "поочередной" или "последовательной доставкой". В вариантах осуществления любого из случаев благодаря комбинированному введению лечение является более эффективным. Например, второе лекарственное средство является более эффективным, например, эквивалентный эффект наблюдают при меньшем количестве второго лекарственного средства или второе лекарственное средство уменьшает симптомы в большей степени, чем наблюдалось бы, если бы второе лекарственное средство вводили в отсутствие первого лекарственного средства, или аналогичную ситуацию наблюдают с первым лекарственным средством.

В некоторых вариантах осуществления доставка является такой, что уменьшение симптома или другого параметра, связанного с нарушением, является более выраженным, чем наблюдалось бы, если бы одно лекарственное средство доставляли в отсутствие другого. Эффект двух лекарственных средств может быть частично аддитивным, полностью аддитивным или более чем аддитивным (т.е. синергичным).

Доставка может быть такой, что эффект первого доставляемого лекарственного средства все еще поддается обнаружению, когда доставляют второе лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько лекарственных средств можно доставлять до диагностики нарушения у пациента.

Полная среда *N. europaea* относится к среде для роста *N. europaea*, описанной в Ensign *et al.*, "In vitro activation of ammonia monooxygenase from *Nitrosomonas europaea* by copper." J Bacteriol. 1993 Apr;175(7):1971-80.

"Культивировать" относится к процессу помещения некоторого количества желаемых бактерий в условия, которые обеспечивают их рост, т.е. обеспечивают деление клеток. Условия могут вовлекать определенную культуральную среду, установленный температурный диапазон и/или скорость встряхивания. Бактерии можно культивировать в жидкой культуре или на чашках, например, на чашках с агаром.

Термин "выделенный", как используют в рамках изобретения, относится к материалу, который извлечен из его исходной или нативной среды (например, естественной среды, если он является встречающимся в природе). Например, встречающийся в природе полинуклеотид или полипептид, присутствующий в живом животном, не является выделенным, но тот же полинуклеотид или полипептид, отделенный посредством вмешательства человека от некоторых или всех сосуществующих с ним в естественной системе материалов, является выделенным. Такие полинуклеотиды могут быть частью вектора и/или такие полинуклеотиды или полипептиды могут быть частью композиции, и все еще могут быть выделенными, поскольку такой вектор или композиция не является частью среды, в которой он находится в природе.

Термины "нуклеиновая кислота", "последовательность нуклеиновой кислоты", "нуклеотидная последовательность" или "полинуклеотидная последовательность" и "полинуклеотид" используют взаимозаменяемо. Они относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины, например, дезоксирибонуклеотидов или рибонуклеотидов, или их аналогов. Полинуклеотид может быть либо одноцепочечным, либо двухцепочечным, и, если он является одноцепочечным, он может представлять собой кодирующую цепь или не кодирующую (антисмысловую) цепь. Полинуклеотид может

содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов может прерываться нуклеотидными компонентами. Полинуклеотид может быть далее модифицирован после полимеризации, например, посредством конъюгации с осуществляющим мечение компонентом. Нуклеиновая кислота может представлять собой рекомбинантный полинуклеотид или полинуклеотид геномного происхождения, из кДНК, полусинтетического происхождения, который либо не встречается в природе, либо связан с другим полинуклеотидом в неприродном порядке.

Как используют в рамках изобретения, термин "оптимизированная скорость роста" относится к одному или нескольким из: времени удвоения менее чем приблизительно 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 часов при культивировании в условиях периодического культивирования, как описано в настоящем описании в примере 2; времени удвоения менее чем приблизительно 16, 18, 20, 22, 24 или 26 часов при выращивании в условиях хемостата, как описано в настоящем описании в примере 2; или вырастанию от OD600 приблизительно 0,15 до по меньшей мере приблизительно 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7 или 0,8 в течение приблизительно 1 или 2 суток. В одном варианте осуществления оптимизированная скорость роста представляет собой скорость роста, имеющую время удвоения, которое по меньшей мере на 10, 20, 30, 40 или 50% короче, чем время удвоения встречающихся в природе *N. eutropha*.

Как используют в рамках изобретения, "оптимизированная скорость окисления NH_4^+ " относится к скорости конвертирования NH_3 или NH_4^+ в NO_2^- по меньшей мере приблизительно 50, 75, 125 или 150 микромоль в минуту. Например, скорость конвертирования NH_4^+ (например, при концентрации приблизительно 200 мМ) в NO_2^- может составлять по меньшей мере приблизительно 50, 75, 125 или 150 микромоль в минуту. В одном варианте осуществления оптимизированная скорость окисления NH_4^+ представляет собой скорость, при которой NH_3 или NH_4^+ конвертируется в NO_2^- по меньшей мере на 10, 20, 30, 40 или 50% быстрее, чем у встречающихся в природе *N. eutropha*.

Процентную (%) идентичность аминокислотных последовательностей в отношении аминокислотных последовательностей, представленных в настоящем описании (например, белки, экспрессируемые *N. eutropha* D23) определяют как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в эталонной последовательности, которая может представлять собой последовательность встречающихся в природе *N. eutropha* или последовательность *N. eutropha* D23, после выравнивания последовательностей и внесения пропусков, если необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей, и рассматривая какие-либо консервативные замены как часть идентичности последовательностей. Выравнивание для целей определения процентной идентичности аминокислотных последовательностей можно осуществлять различными способами, которые могут быть осуществлены специалистами в данной области, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для проведения выравнивания, включая какие-либо алгоритмы, требуемые для достижения максимального выравнивания на протяжении всей длины сравниваемых последовательностей. Например, для определения идентичности аминокислотных

последовательностей можно использовать программное обеспечение WU-BLAST-2 (Altschul et al, Methods in Enzymology 266, 460-480 (1996); <http://blast.wustl.edu/blast/README.html>). В WU-BLAST-2 используется несколько параметров поиска,

большинство из которых установлены на величины по умолчанию. Настраиваемые параметры устанавливают следующим образом: длина перекрытия=1, доля перекрытия=0,125, пороговое значение для слова (T)=1. Параметры показателя HSP (S) и HSP S2 представляют собой динамические величины и определяются самой программой, в зависимости от состава конкретной последовательности, однако минимальные величины можно корректировать соответствующим образом.

Аминокислотные замены могут быть результатом замены одной аминокислоты другой аминокислотой, имеющей сходные структурные и/или химические свойства, такой как замена лейцина серином, т.е. консервативных аминокислотных замен. Типичными, но не ограничивающими консервативными заменами являются замены одной на другую алифатических аминокислот Ala, Val, Leu и Ile; взаимная замена Ser и Thr, содержащих гидроксигруппы, взаимная замена кислотных остатков Asp и Glu, взаимная замена между амидсодержащими остатками Asn и Gln, взаимная замена основных остатков Lys и Arg, взаимная замена ароматических остатков Phe и Tyr, и взаимная замена аминокислот малого размера Ala, Ser, Thr, Met и Gly. Дополнительные консервативные замены включают замены аминокислоты другой аминокислотой сходной пространственной и стерической конфигурации, например, взаимную замену Asn и Asp или Gln и Glu. Аминокислотные замены также могут быть результатом замены одной аминокислоты другой аминокислотой, имеющей несходные структурные и/или химические свойства, т.е. неконсервативных аминокислотных замен. Инсерции или делеции необязательно могут быть в диапазоне от 1 до 5 аминокислот. Допустимое варьирование может быть определено посредством систематического внесения инсерций, делеций или замен аминокислот в последовательности и тестирования полученных вариантов в отношении активности в анализах *in vivo* или *in vitro*, например, в отношении метаболизма мочевины или аммиака.

Процентную (%) идентичность последовательностей в отношении последовательностей нуклеиновых кислот, описанных в настоящем описании (например, геном *N. eutropha* D23 и его части) определяют как процент нуклеотидов в последовательности-кандидате, которые являются идентичными с нуклеотидами в эталонной последовательности, которая может представлять собой последовательность встречающихся в природе *N. eutropha* или последовательность *N. eutropha* D23, после выравнивания последовательностей и внесения пропусков, если необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей. Выравнивание для определения процентной идентичности нуклеотидных последовательностей можно осуществлять различными способами, которые могут быть осуществлены специалистами в данной области, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST. Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для проведения выравнивания на протяжении всей длины сравниваемых последовательностей.

Термины "полипептид", "пептид" и "белок" (если он является одноцепочечным) используются в настоящем описании взаимозаменяемо для обозначения полимеров аминокислот. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и он может прерываться не аминокислотами. Термины также охватывают полимер из аминокислот, который является модифицированным; например, посредством образования дисульфидной связи,

гликозилирования, липидизации, ацетилирования, фосфорилирования или любой другой манипуляции, такой как конъюгация с осуществляющим мечение компонентом.

Полипептид может быть выделен из природных источников, может быть получен рекомбинантными способами из эукариотического или прокариотического хозяина, или он может быть продуктом способов синтеза.

Как используют в рамках изобретения, "оптимизированная резистентность к NH_4^+ " относится к способности расти в условиях более чем 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 или 300 мМ NH_3 или NH_4^+ в течение по меньшей мере приблизительно 24 или 48 часов. В одном варианте осуществления оптимизированная резистентность к NH_4^+ относится к способности расти по меньшей мере на 10, 20, 30, 40 или 50% быстрее или по меньшей мере на 10, 20, 30, 40 или 50% дольше в присутствии выбранной концентрации NH_3 или NH_4^+ , чем могут встречающиеся в природе *N. eutropha*.

Как используют в рамках изобретения в отношении сравнения последовательностей нуклеиновых кислот или белков, "сходный" означает имеющий гомологию. Сходный ген или белок может содержать, например, замены (такие как консервативные или неконсервативные замены), инсерции (например, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 аминокислот и, например, вплоть до 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 или 50 аминокислоты, или любую их положительную комбинацию или количество нуклеотидов, необходимое для кодирования указанных аминокислот) или делеции (например, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 аминокислот и, например, вплоть до 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 или 50 аминокислот, или любую их положительную комбинацию или количество нуклеотидов, требуемое для кодирования указанных аминокислот), или любую их комбинацию. Каждая из замен, инсерций и делеций может быть расположена на N-конце, C-конце или в центральной части белка или гена. В вариантах осуществления консервативная замена представляет собой замену, которая не изменяет заряд, и/или полярность, и/или приблизительный размер и/или геометрию в замещенном положении.

Как используют в рамках изобретения, "индивидуум" может включать животное, млекопитающее, человека, не являющееся человеком животное, домашний скот или животное-компаньона. Термин "индивидуум" включает человека и не являющихся человеком животных, например, позвоночных, крупных животных и приматов. В определенных вариантах осуществления индивидуумом является млекопитающее и в конкретных вариантах осуществления индивидуумом является человек. Хотя явно предусматривается применение для человека, также в настоящем описании предусматривается ветеринарное применение, например, для не являющихся человеком животных. Термин "не являющиеся человеком животные" в настоящем описании включает всех позвоночных, например, не млекопитающих (таких как птицы, например, куры; земноводные; пресмыкающиеся) и млекопитающих, таких как не являющиеся человеком приматы, домашние и сельскохозяйственные животные, например, овца, собака, кошка, корова, свинья, крыса, среди прочих.

Как используют в рамках изобретения, "трансгенный" означает содержащий одну или несколько экзогенных частей ДНК. Экзогенная ДНК происходит из другого организма, например, другой бактерии, бактериофага, животного или растения.

Как используют в рамках изобретения, "лечение заболевания или состояния" относится к уменьшению тяжести или частоты по меньшей мере одного симптома этого заболевания или состояния по сравнению со сходным, но не подвергаемым лечению пациентом. Лечение также относится к остановке, замедлению или обращению вспять

прогрессирования заболевания или состояния по сравнению со сходным, но не поддающимся лечению пациентом. Лечение может включать нацеливание на коренную причину заболевания и/или одного или нескольких симптомов.

Как используют в рамках изобретения "терапевтически эффективное количество" относится к дозе, достаточной для предупреждения прогрессирования или для обеспечения регрессии заболевания или состояния, или способной смягчать симптом заболевания или состояния или способной достигать желаемого результата. Терапевтически эффективную дозу можно измерять, например, в качестве количества бактерий или количества жизнеспособных бактерий (например, в к.о.е.), или массы бактерий (например, в миллиграммах, граммах или килограммах), или объема бактерий (например, в мм³).

Как используют в рамках изобретения, термин "жизнеспособность" относится к автотрофным бактериям, например, окисляющим аммиак бактериям, способным окислять аммиак, аммоний или мочевины в нитрит с заданной скоростью. В некоторых вариантах осуществления скорость относится к конвертированию ионов аммония (NH₄⁺) (например, в концентрации приблизительно 200 мМ) в нитрит (NO₂⁻) со скоростью по меньшей мере 50, 75, 125 или 150 микромоль NO₂⁻ в минуту, например, приблизительно 100-150, 75-175, 75-125, 100-125, 125-150 или 125-175 микромоль/минута, например, приблизительно 125 микромоль NO₂⁻ в минуту.

"Среда для роста" или "среда АОВ", как упоминается в настоящем описании, содержит компоненты, представленные в таблице 2 или таблице 3:

Таблица 2

	Масса/объем (в ~1,5 л)	Конечная концентрация (в ~1,5 л)
(NH ₄) ₂ SO ₄ (ММ 132,14)		50 мМ NH ₄ ⁺
КН ₂ РO ₄ (ММ 136,1)		
1 М MgSO ₄	1,137 мл	
1 М CaCl ₂	0,3 мл	
30 мМ FeCl ₃ /50 мМ EDTA	0,5 мл	10 мкМ/16,7 мкМ
50 мМ CuSO ₄	30 мкл	1,0 мкМ
Добавить 1400 мл ddH ₂ O в колбу. Автоклавировать. Хранить при комнатной температуре.		
После автоклавирования добавить:		
Фосфатный буфер	100 мл	32 мМ КН ₂ РO ₄ /2,7 мМ NaH ₂ РO ₄ ·H ₂ O
5% Na ₂ CO ₃	12 мл	0,04%

Таблица 3

	Среда для периодической культуры Масса/объем (1 л) (конечная концентрация)	Раствор для подпитки Масса/объем (1 л) (конечная концентрация)
(NH ₄) ₂ SO ₄ (ММ 132,14)	3,3 г (50 мМ NH ₄ ⁺)	13,2 г (200 мМ NH ₄ ⁺)
КН ₂ РO ₄ (ММ 136,1)	1,23 г (9,0 мМ)	0,41 г (3,0 мМ)
1 М MgSO ₄	0,758 мл (0,76 мМ)	0,758 мл (0,76 мМ)
1 М CaCl ₂	0,2 мл (0,2 мМ)	0,2 мл (0,2 мМ)
30 мМ FeCl ₃ /50 мМ EDTA	0,333 мл (10 мкМ/16,7 мкМ)	0,333 мл (10 мкМ/16,7 мкМ)
50 мМ CuSO ₄	20 мкл (1,0 мкМ)	20 мкл (1,0 мкМ)
ddH ₂ O	1000 мл	1000 мл
Автоклавировать каждый раствор и хранить при комнатной температуре.		

В некоторых вариантах осуществления состояние, имеющее наибольшее значение для настоящего изобретения, представляет собой состояние роста, например, максимального роста, характеризующееся значением pH по меньшей мере

5 Другое состояние может характеризоваться pH приблизительно 7,4 или менее и характеризоваться отсутствием диоксида углерода. В условиях низкого содержания диоксида углерода окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, продолжают окислять аммиак в нитрит и генерировать АТР, но им не хватает диоксида углерода, например, им недостаточно диоксида углерода, для фиксации и образования белка,
10 вместо этого в них образуется полифосфат, который они используют в качестве средства для запасаания энергии. Это может позволить окисляющим аммиак бактериям оставаться в "состоянии хранения" в течение периода времени, например, заданного периода времени, например, в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, суток, 1, 2, 3, 4 недель, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 месяцев, 1, 2, 3, 4 или 5 лет. В некоторых вариантах
15 осуществления окисляющие аммиак бактерии могут оставаться в состоянии хранения в течение от по меньшей мере приблизительно 6 месяцев до приблизительно 1 года.

Как используют в рамках изобретения, "состояние роста" относится к автотрофным бактериям, например, окисляющим аммиак бактериям, в состоянии или в окружающих условиях, например, в среде, например, в культуральной среде, например, среде для
20 роста, которая может иметь pH по меньшей мере приблизительно 7,6. Уровни по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины могут составлять приблизительно от 1 микромоль/л до 1000 миллимоль/л. Уровни микроэлементов составляют приблизительно от 0,01 микромоль железа/л до 200 микромоль железа/л. Уровни кислорода составляют приблизительно от 5% до 100% насыщения кислородом
25 (например, среды). Уровни диоксида углерода составляют приблизительно от 20 м.д. до 10% насыщения (например, среды). В некоторых аспектах, уровни по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины могут составлять приблизительно от 10 микромоль/л до 100 миллимоль/л. Уровни микроэлементов составляют приблизительно от 0,1 микромоль железа/л до 20 микромоль железа/л. Уровни кислорода
30 составляют приблизительно от 5% до 100% насыщения кислородом. Уровни диоксида углерода составляют приблизительно от 200 м.д. до 5% насыщения (например, среды).

Как используют в рамках изобретения, "состояние нагрузки полифосфатом" относится к автотрофным бактериям, например, окисляющим аммиак бактериям, в состоянии или в окружающих условиях, например, в среде, например, в культуральной среде,
35 например, в среде для роста, которая может иметь pH приблизительно 7,4 или менее. Уровни по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины составляют приблизительно от 1 микромоль/л до 2000 миллимоль/л. Уровни микроэлементов составляют от 0,01 микромоль железа/л до 200 микромоль железа/л. Уровни кислорода составляют приблизительно от 0% до 100% насыщения O₂ (например, среды). Уровни
40 диоксида углерода составляют от нуля и до менее чем приблизительно 400 м.д., и уровни фосфатов составляют более чем приблизительно 1 микромоль/л. В некоторых аспектах, уровни по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины составляют приблизительно от 10 микромоль/л до 200 миллимоль/л. Уровни микроэлементов составляют от 0,1 микромоль железа/л до 20 микромоль железа/л. Уровни кислорода
45 составляют приблизительно от 5% до 100% насыщения O₂. Уровни диоксида углерода составляют от нуля и до менее чем приблизительно 200 м.д., и уровни фосфатов превышают приблизительно 10 микромоль/л.

Состояние нагрузки полифосфатами можно индуцировать в течение периода времени,

например, заданного периода времени. Заданный период времени может представлять собой период времени, который позволяет достаточное накопление полифосфатов в окисляющих аммиак бактериях. Этот заданный период времени представляет собой период, пригодный для обеспечения достаточной нагрузки полифосфатами, чтобы
 5 позволить окисляющим аммиак бактериям храниться в течение длительного периода времени. Заданный период времени может быть по меньшей мере частично основан на периоде времени, отличающемся от времени удвоения окисляющих аммиак бактерий приблизительно в 0,2-10 раз, в 0,3-5 раз, в 0,5-3 раз, в 0,5-1,5 раз или 0,5-1 раз. Заданный период времени может быть по меньшей мере частично основан на периоде времени,
 10 составляющем приблизительно одно время удвоения окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления заданный период времени составляет от 8 часов до 12 часов. В некоторых вариантах осуществления заданный период времени составляет приблизительно 10 часов. В некоторых вариантах осуществления заданный период времени составляет приблизительно 24 часа.

15 Целью состояния нагрузки полифосфатами может быть предоставление АОВ с достаточным уровнем аммиака, ионов аммония и/или мочевины, и O_2 , так чтобы мог продуцироваться АТР, но лишение их CO_2 и карбоната, так чтобы они были неспособны использовать этот АТР для фиксации CO_2 и вместо этого использовали этот АТР для
 20 образования полифосфата, который может запасаться бактериями.

Как используют в рамках изобретения, термин "состояние сохранения" относится к автотрофным бактериям, например, окисляющим аммиак бактериям, в состоянии или в окружающих условиях, например, в среде, например, культуральной среде, например, среде для роста, имеющей рН приблизительно 7,4 или менее (в некоторых вариантах
 25 осуществления рН может составлять 7,6 или менее). Уровни по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины составляют приблизительно от 0,1 до 1000 микромоль/л. Уровни микроэлементов составляют приблизительно от 0,1 до 100 микромоль/л. Уровни кислорода составляют приблизительно от 0 до 100% насыщения (например, среды). Уровни диоксида углерода составляют приблизительно от 0 до 800
 30 м.д. В некоторых аспектах уровни по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины составляют приблизительно от 10 до 100 микромоль/л. Уровни микроэлементов составляют приблизительно от 1 до 10 микромоль/л. Уровни кислорода составляют приблизительно от 0 до 100% насыщения (например, среды). Уровни диоксида углерода составляют приблизительно от 0 до 400 м.д.

35 Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения АОВ получают путем получения биомассы АОВ в состоянии роста, затем воздействие на АОВ состояния нагрузки полифосфатами, а затем удаление среды и суспендирование АОВ в буфере, например, буфере для хранения (т.е. состояние сохранения).

Окисляющие аммиак бактерии могут оставаться в "состоянии сохранения" в течение периода времени, например, заданного периода времени, например, по меньшей мере
 40 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 суток, 1, 2, 3, 4 недель, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 месяцев, 1, 2, 3, 4 или 5 лет. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии могут оставаться в состоянии хранения в течение по меньшей мере от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 1 года. При оживлении жизнеспособность окисляющих
 45 аммиак бактерий составляет по меньшей мере приблизительно 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% от жизнеспособности окисляющих аммиак бактерий до сохранения, например, в состоянии роста). В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий можно получать так, чтобы не более чем 10%, 20%, 30%,

40%, 50%, 60% или 70% способности к окислению NH_4^+ утрачивалось при хранении в выбранных условиях.

Время, требуемое для оживления окисляющих аммиак бактерий после состояния сохранения (или состояния нагрузки полифосфатами), может представлять собой заданный период времени. Например, заданный период времени может составлять менее чем приблизительно 75 часов или менее чем приблизительно 72 часа. Заданный период времени может быть по меньшей мере частично основан на периоде времени, отличающимся приблизительно в 0,2-10 раз, 0,3-5 раз, 0,5-3 раза, 0,5-1,5 раза или в 0,5-1 раз от времени удвоения окисляющих аммиак бактерий. Заданный период времени может быть по меньшей мере частично основан на периоде времени, составляющем приблизительно одно время удвоения окисляющих аммиак бактерий. Заданный период времени может составлять приблизительно от 8 часов до 12 часов. Заданный период времени может составлять приблизительно 10 часов. Заданный период времени может составлять менее чем приблизительно 75 часов, 72 часа, 70 часов, 68 часов, 65 часов, 60 часов, 55 часов, 50 часов, 45 часов, 40 часов, 35 часов, 30 часов, 25 часов, 20 часов, 15 часов, 10 часов, 5 часов, 4 часа, 3 часа, 2 часа или 1 час. Заданный период времени может составлять приблизительно от 5 минут до 5 часов. Заданный период времени может составлять приблизительно 5-10 минут, 10-15 минут, 15-20 минут, 20-25 минут, 25-30 минут, 30-45 минут, 45-60 минут, 60 минут-1,5 часа, 1,5 часа-2 часа, 2 часа-2,5 часа, 2,5 часа-3 часа, 3 часа-3,5 часа, 3,5 часа-4 часа, 4 часа-4,5 часа, 4,5 часа-5 часов. В некоторых вариантах осуществления заданный период времени может составлять приблизительно 2 часа. Заданный период времени, например, может представлять собой период времени, требуемый для достижения оживления окисляющих аммиак бактерий, например, достижения жизнеспособности окисляющих аммиак бактерий по сравнению с жизнеспособностью бактерий до сохранения (например, в состоянии роста), например, жизнеспособности по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% или 100%.

"Активацию", как используют в рамках изобретения, используют в отношении автотрофных бактерий, например, окисляющих аммиак бактерий. Активация относится к любому действию, которое может приводить окисляющие аммиак бактерии в потенциально более активное состояние, например, состояние роста. Активация может относиться к стимуляции автотрофных бактерий, например, окисляющих аммиак бактерий, для способствования в некоторой степени конвертированию по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины в нитрит, оксид азота или предшественники оксида азота. Активация может относиться к способствованию установлению бактериальной колонии, например, чтобы позволить автотрофным бактериям, например, окисляющим аммиак бактериям, конкурировать с другими существующими бактериями. Активация может относиться к обеспечению окружающих условий, которые могут способствовать развитию и/или росту автотрофных бактерий, например, окисляющих аммиак бактерий. Активация может относиться к ускорению доступности автотрофных бактерий, например, окисляющих аммиак бактерий для окружающей среды или поверхности. "Активация" может обеспечивать нахождение окисляющих аммиак бактерий в "активированном состоянии" или "состоянии роста". "Активация" может происходить с использованием активатора. Окисляющие аммиак бактерии могут контактировать с активатором для приведения окисляющих аммиак бактерий в "активированное" состояние или состояние "роста". Это может происходить в или снаружи контейнера, устройства для доставки или системы доставки, например, в первой камере, второй камере, камере для смешения, третьей или дополнительной

камере или их комбинациях. Активатор может представлять собой по меньшей мере одно из аммиака, ионов аммония и мочевины. Активатор может представлять собой соль аммония, например, хлорид аммония или сульфат аммония. Концентрация активатора, например, соли аммония, например, хлорида аммония или сульфата аммония, может находиться в диапазоне от приблизительно 10 микромоль/л до приблизительно 100 миллимоль/л. В некоторых аспектах концентрация активатора, например, соли аммония, например, хлорида аммония или сульфата аммония, может находиться в диапазоне от приблизительно 0,5 мМ до приблизительно 50 мМ. Активатор может находиться в растворе, суспензии, порошке, например, кристаллической форме, среде, буфере, или он может быть размещен в или предоставлен в качестве подходящего носителя для поддержания активатора. Окисляющие аммиак бактерии могут быть в любой подходящей форме для поддержания АОВ в желаемом состоянии, например, состоянии хранения, например, в форме водной суспензии, геля или порошка. По меньшей мере одно из аммиака, ионов аммония или мочевины может находиться в среде или буфере для стимуляции роста окисляющих аммиак бактерий, например, в среде АОВ или в среде для роста. В качестве активатора можно использовать мочевину с замедленным высвобождением или с контролируемым высвобождением.

"Приведение в действие", как используют в рамках изобретения, означает, что предпринимается некоторое действие, например, начинается процесс или что-либо приводится в движение. В некоторых вариантах осуществления приведение в действие может относиться к разрушению барьера контейнера или к началу движения одного или нескольких компонентов контейнера, например, доставке одного или нескольких компонентов контейнера наружу контейнера, например, на поверхность или в окружающую среду.

"Барьер", как используют в рамках изобретения, может означать любую структуру или конфигурацию, которая может служить для преграждения прохождения или для поддержания разделения, например, между первой камерой и второй камерой контейнера. Барьер может быть в форме клапана, например, обратного клапана, фильтрующего материала, пленки, воска, липида, полимера или материала с контролируемым высвобождением, например, материала с замедленным высвобождением. Барьер может представлять собой материал, который при приведении в действие контейнера может позволить проходить содержимому из первой камеры во вторую камеру, проходить содержимому из второй камеры в первую камеру, или оба этих варианта. Барьер может быть нарушен при приведении в действие, например, путем прокалывания, продавливания, просверливания, перфорирования, пересечения, разбиения, открытия или разрыва барьера. Барьер может иметь форму клапана, например, обратного клапана, гибкого или негибкого материала, который может не деградировать при контакте с одним или несколькими компонентами контейнера, или гибкого или негибкого материала, который может деградировать при контакте с одним или несколькими компонентами контейнера, фильтрующего материала. Барьер может быть изготовлен из любого материала, пригодного для его назначения, например, материала, который может служить для преграждения прохождения или для поддержания разделения, например, полимерный материал или металлический материал.

"Микробиом" относится к популяции, например, к одному или нескольким микроорганизмам, которые живут на поверхности индивидуума, например, в кишечнике, полости рта, на коже и/или где-либо еще у индивидуума. Популяция может иметь одну или несколько полезных функций и/или преимуществ, касающихся поддержания жизни индивидуума.

"Благотворный для биома" относится к чему-либо, например, продукту, например, косметическому продукту, например, готовому косметическому продукту, который может позволить минимальное нарушение микробиома индивидуума. Например, благотворный для биома относится к продукту, который может быть применен у индивидуума, который может позволить поддержание микробиома в месте применения, минимальное его нарушение и/или способен возвращать микробиом после некоторого периода времени после применения продукта. В вариантах осуществления благотворный для биома может относиться к благотворному для окисляющих аммиак бактерий, поскольку продукт может обеспечить минимальное разрушение окисляющих аммиак бактерий у индивидуума.

В некоторых вариантах осуществления "благотворный для биома" может быть указан как "совместимый с биомом".

"Натуральный продукт" представляет собой или может содержать продукт, который может по меньшей мере частично происходить из природы. Он может представлять собой что-либо или содержать что-либо, продуцированное живым организмом, и может включать сами организмы. Натуральные продукты могут включать или содержать целый организм или часть организма (например, лист растения), экстракт из организма, органическое соединение из организма, очищенное органическое соединение из организма. Натуральные продукты могут представлять собой или содержать органические вещества, присутствующие в клетках, включая первичные метаболиты (аминокислоты, углеводы и нуклеиновые кислоты) и вторичные метаболиты (органические соединения, присутствующие в ограниченном диапазоне видов, например, поликетиды, жирные кислоты, терпеноиды, стероиды, фенилпропаноиды, алкалоиды, специализированные аминокислоты и пептиды, специализированные углеводы). Натуральные продукты могут представлять собой или содержать полимерные органические материалы, такие как целлюлоза, лигнин и белки.

Натуральные продукты могут представлять собой или содержать продукты для коммерческих целей, и они могут относиться к косметическим средствам, пищевым добавкам и продуктам питания, полученным из природных источников. Натуральные продукты могут обладать фармакологической или биологической активностью, которая может иметь терапевтическую пользу, например, при лечении заболеваний или состояний. Натуральные продукты могут быть включены в традиционные лекарственные средства, средства косметологического назначения и средства оздоровительных процедур. Натуральный продукт, упоминаемый в настоящем описании, может содержать любой один или несколько из компонентов, описанных в качестве натурального продукта, включаемого в препарат или состав, содержащий один или несколько других компонентов, например, эксципиентов. Препарат или состав, упоминаемые в качестве натурального продукта, могут содержать натуральный продукт, определенный в настоящем описании, и один или несколько дополнительных компонентов или ингредиентов. Любые из композиций, препаратов или составов, описанных на протяжении настоящего описания, могут представлять собой или содержать один или несколько натуральных продуктов.

В некоторых вариантах осуществления натуральный продукт или обогащенный натуральный продукт может содержать по меньшей мере одно из грязи, воды, пищевых продуктов, растительных продуктов, экстрактов и масел. Натуральный продукт или обогащенный натуральный продукт может использоваться в оздоровительных процедурах.

В некоторых вариантах осуществления натуральный продукт или обогащенный

натуральный продукт может быть включен по меньшей мере в одно из порошка, крема, лосьона, средства для обертывания, скраба, маски для глаз, маски для лица, маски для тела, аэрозоля, например, дымки, спрея, мази, салфетки, карандаша, повязки или пропитки.

- 5 В некоторых вариантах осуществления натуральный продукт или обогащенный натуральный продукт может быть предоставлен в качестве или может быть помещен в по меньшей мере одно из детских продуктов, например, детский шампунь, детский лосьон, детское масло, детский порошок, детский крем; средства для ванн, например, масло для ванн, таблетку, соль, пену для ванн, капсулу для ванн; средства для макияжа
- 10 глаз, например, карандаш для бровей, карандаш для подведения глаз, тень для глаз, лосьон для глаз, средство для удаления макияжа с глаз, тушь; парфюмерного изделия, например, одеколон, туалетную воду, духи, порошок (пудра и тальк), саше; средства для волос, например, кондиционеры для волос, спреи для волос, средства для выпрямления волос, средства для химической завивки, ополаскиватели, шампуни,
- 15 тоники, обертки, добавки для ухода за волосами, наборы для завивки; средства для окрашивания волос, например, краски и красители для волос, оттеночные средства для волос, оттеночные ополаскиватели, оттеночные шампуни, осветлители волос с красителем, отбеливатели для волос; средств для макияжа, например, пудру, тональный крем, краски для ног и тела, губную помаду, основы для макияжа, румяна, фиксаторы
- 20 макияжа; средств для маникюра, например, базовый слой и подслои, смягчители кутикулы, кремы и лосьоны для ногтей, средства для удлинения ногтей, лак и эмаль для ногтей, средства для удаления лака и эмали для ногтей; продуктов для гигиены полости рта, например, средства для чистки зубов, средства для полоскания полости рта и освежители дыхания; мыла для ванн и детергентов, дезодорантов, средств для
- 25 спринцевания, женских гигиенических дезодорантов; средств для бритья, например, лосьоны после бритья, смягчители для бороды, тальк, лосьоны до бритья, крем для бритья, мыло для бритья; средств для ухода за кожей, например, очищающие средства, средства для депиляции, порошки и спреи для лица и шеи, тела и рук, стоп, увлажняющие средства, ночные средства, густые маски, освежители кожи; и средств для загара,
- 30 например, гели, кремы и жидкости и средства для искусственного загара.

Как используют в рамках изобретения, "присутствие" или "уровень" могут относиться к качественному или количественному признаку компонента, например, любого одного или нескольких из окисляющих аммиак бактерий, аммиака, ионов аммония, мочевины, нитрита или оксида азота. Присутствие или уровень могут включать нулевую величину

35 или отсутствие компонента.

Как используют в рамках изобретения, термин "поверхностно-активное вещество" включает соединения, которые могут снижать поверхностное натяжение или напряжение на поверхности раздела между двумя жидкостями или между жидкостью и твердым веществом. Поверхностно-активные вещества могут выступать в качестве детергентов,

40 смачивающих веществ, эмульгаторов, пенообразующих средств и диспергирующих средств. Поверхностно-активные вещества могут включать одно или несколько из следующих, отдельно или в комбинации с перечисленными или другими поверхностно-активными веществами или подобными поверхностно-активным веществам соединениями: кокаמידопропилбетаин (ColaTeric COAB), сложный эфир полиэтилена и сорбита (например, Tween 80), этоксилированный лауриловый спирт (RhodaSurf 6 NAT), натрий лауретсульфат/лаурилглюкозид/кокаמידопропилбетаин (Plantapon 611 L UP), натрий лауретсульфат (например, RhodaPex ESB 70 NAT), алкилполиглюкозид (например, Plantaren 2000 N UP), натрий лауретсульфат (Plantaren 200), мыло Dr. Bronner's

Castile, детское мыло Dr. Bronner's, оксид лаурамина (ColaLux Lo), додецилсульфат натрия (SDS), полисульфонат алкилполиглюкозид (PolySufanate 160 P), лаурилсульфат натрия (Stepanol-WA Extra K) и их комбинации. Мыло Dr. Bronner's Castile и детское мыло содержит воду, органическое кокосовое масло, гидроксид калия, органическое оливковое
 5 масло, органическое конопляное масло по программе справедливой торговли, органическое мало жожоба, лимонную кислоту и токоферол.

Поверхностно-активные вещества могут включать натрий лаурилглюкозид гидроксипропилсульфонат (Suga®nate 160NC), лаурамидопропилбетаин (Cola®Teric LMB); кокамидопропилгидроксисултаин (Cola®Teric CBS); динатрий кокоамфодиацетат
 10 (Cola®Teric CDCX-LV); натрий лаурилглюкозид гидроксипропилфосфат (Suga®Fax D12).

Поверхностно-активные вещества могут включать лауроилметилизетионат (Iselux® LQ-CLR-SB); натрий метилкокоилтаурат (Pureact WS Conc.); воду (и) натрий лауроилметилизетионат (и) кокамидопропилбетаин (и) натрий кокоилизетионат (и)
 15 натрий метилолеилтаурат (Iselux ®SFS-SB).

Настоящее изобретение предусматривает другие поверхностно-активные вещества.

2. Окисляющие аммиак бактерии (АОВ), *N. eutropha* штамма D23 и другие окисляющие аммиак бактерии

Автотрофные окисляющие аммиак бактерии, которые могут быть обозначены в
 20 настоящем описании как АОВ, представляют собой облигатные автотрофные бактерии, как указано в Alan B. Hooper and A. Krummel at al. Alan B. Hooper, Biochemical Basis of Obligate Autotrophy in *Nitrosomonas europaea*, Journal of Bacteriology, Feb 1969, p. 776-779. Antje Krummel et al., Effect of Organic Matter on Growth and Cell Yield of Ammonia-Oxidizing Bacteria, Arch Microbiol (1982) 133: 50-54. Эти бактерии получают всю метаболическую
 25 энергию только из окисления аммиака в нитрит с оксидом азота (NO) в качестве промежуточного продукта дыхательной цепи и получают практически весь углерода посредством усвоения диоксида углерода. Они не способны использовать источники углерода, отличные от нескольких простых молекул.

Окисляющие аммиак бактерии (АОВ) широко встречаются в окружающей среде и в
 30 присутствии аммиака, кислорода микроэлементов усваивают диоксид углерода и пролиферируют. АОВ могут замедлять рост, и токсические уровни аммиака могут убивать рыб и другие организмы до того, как АОВ могут пролиферировать и уменьшать уровень аммиака до нетоксичных уровней. Медленный рост АОВ также может замедлять пользу для здоровья NO и нитрита, которые продуцируются АОВ при нанесении на
 35 кожу.

Является желательным дополнение аквариума, кожи или процесса достаточным количеством жизнеспособных АОВ, выращенных и хранящихся для этой цели. АОВ не образуют споры, так что хранение в сухом состоянии с высокой жизнеспособностью является трудным и хранение во влажном состоянии оставляет их метаболически
 40 активными.

Было исследовано ухудшение способности к нитрифицированию в ходе хранения АОВ для обработки сточных вод, например, (Munz G, Lubello C, Oleszkiewicz JA. Modeling the decay of ammonium oxidizing bacteria. Water Res. 2011 Jan; 45(2): 557-64. Oi: 10.1016/j.watres.2010.09.022.).

Рост, длительное хранение и восстановление активности *Nitrosomonas* обсуждается Cassidy et al. (U.S. 5314542) где они описывают выращивание *Nitrosomonas*, удаление токсичных отходов, хранение в стерильной воде подходящей солености в течение периодов времени вплоть до одного года, а затем оживление добавлением буфера

(CaCO₃) и 200 м.д. аммония, которое занимает 72 часа.

В качестве облигатных автотрофов АОВ синтезируют белок посредством усвоения CO₂ с использованием энергии и восстанавливая эквиваленты, генерируемые окислением аммиака в нитрит. Для роста требуется аммиак, кислород, минералы и диоксид углерода.

Nitrosomonas могут существовать в нескольких метаболических состояниях согласно "Polyphosphate and Orthophosphate Content of *Nitrosomonas europaea* as a Function of Growth", K.R. Terry and A.B. Hooper, Journal of Bacteriology, July 1970, p. 199-206, Vol. 103, No. I.

АОВ, предусматриваемые в рамках настоящего изобретения, могут содержать мутации относительно АОВ дикого типа. Эти мутации могут происходить, например, самопроизвольно, могут быть внесены посредством случайного мутагенеза или могут быть внесены посредством направленного мутагенеза. Например, АОВ могут быть лишены одного или нескольких генов или регуляторных последовательностей ДНК, которые АОВ дикого типа обычно содержат. АОВ также могут содержать точковые мутации, замены, инсерции, делеции и/или перестройки относительно отсеквенированного штамма или штамма дикого типа. АОВ могут представлять собой очищенный препарат оптимизированных АОВ.

В определенных вариантах осуществления АОВ являются трансгенными. Например, они могут содержать один или несколько генов или регуляторных последовательностей ДНК, которых лишены окисляющие аммиак бактерии дикого типа. Более конкретно, окисляющие аммиак бактерии могут содержать, например, репортерный ген, селективный маркер, ген, кодирующий фермент, или промотор (включая индуцибельный или репрессируемый промотор). В некоторых вариантах осуществления дополнительный ген или регуляторная последовательность ДНК встроены в бактериальную хромосому; в некоторых вариантах осуществления дополнительный ген или регуляторная последовательность ДНК расположены на плазмиде.

В некоторых вариантах осуществления АОВ отличаются по меньшей мере на один нуклеотид от встречающихся в природе бактерий. Например, АОВ могут отличаться от встречающихся в природе бактерий в гене или белке, которые являются частью соответствующего каскада, например, каскада метаболизма аммиака, каскада метаболизма мочевины или каскада продукции оксида азота или предшественников оксида азота. Более конкретно, АОВ могут содержать мутацию, которая повышает активность каскада, например, путем повышения уровней или активности элемента этого каскада.

Вышеупомянутые мутации могут быть внесены с использованием любого подходящего способа. Известны многочисленные способы для внесения мутаций в данное положение. Например, можно использовать сайт-направленный мутагенез, олигонуклеотид-направленный мутагенез или сайт-специфический мутагенез. Неограничивающие примеры конкретных протоколов мутагенеза описаны, например, в Mutagenesis, pp. 13,1-13,105 (Sambrook and Russell, eds., Molecular Cloning A Laboratory Manual, Vol. 3, 3.sup.rd ed. 2001). Кроме того, неограничивающие примеры хорошо охарактеризованных протоколов мутагенеза, доступных от коммерческих поставщиков, включают, но не ограничиваются ими, Altered Sites.RTM. II in vitro Mutagenesis Systems (Promega Corp., Madison, Wis.); Erase-a-Base.RTM. System (Promega, Madison, Wis.); GeneTailor.TM. Site-Directed Mutagenesis System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, Calif.); QuikChange.RTM. II Site-Directed Mutagenesis Kits (Stratagene, La Jolla, Calif.); и Transformer.TM. Site-Directed Mutagenesis Kit (BD-Clontech, Mountain View, Calif.).

В определенных вариантах осуществления настоящего описания окисляющие аммиак бактерии могут быть аксеническими. Препарат (состав или композиция) окисляющих

аммиак бактерий может содержать, по существу состоять или состоять из аксенических окисляющих аммиак бактерий.

Окисляющие аммиак бактерии по настоящему изобретению могут быть из рода, выбранного из группы, состоящей из *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospria*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* и их комбинаций.

Настоящее изобретение относится, среди прочего, к *N. eutropha* штамма D23, уникальному, например, оптимизированному, штамму окисляющих аммиак бактерий, который может увеличивать продукцию оксида азота и предшественников оксида азота на поверхности тела индивидуума, например, человека. Также настоящее изобретение относится к способам использования бактерий и изделий, содержащих бактерии.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, являются не встречающимися в природе. Например, они могут иметь накопленные в процессе периода селекции желаемые мутации. В других вариантах осуществления желаемые мутации могут быть внесены экспериментатором. В некоторых вариантах осуществления *N. eutropha* могут представлять собой очищенный препарат и могут представлять собой оптимизированные *N. eutropha*.

В предпочтительных вариантах осуществления штамм *N. eutropha* является автотрофным и, таким образом, не способен вызывать инфекцию. Предпочтительный штамм утилизирует мочевины, а также аммиак, так что гидролиз мочевины в поте не является необходимым перед поглощением и утилизацией бактериями. Также для роста при низких значениях pH бактерии могут либо поглощать ионы NH_4^+ , либо мочевины. Отобранный штамм также должен быть способен жить на наружной поверхности кожи индивидуума, например, человека, и быть толерантным к условиям на ней.

Хотя настоящее изобретение относится конкретно к штамму D23 *N. eutropha*, препараты, способы, композиции, способы лечения, пригодные для носки изделия и предметы одежды можно использовать с одним или несколькими из: одного или нескольких других штаммов *N. eutropha*, одного или нескольких других видов *Nitrosomonas*, и одной или нескольких других окисляющих аммиак бактерий.

В определенных вариантах осуществления *N. eutropha* представляет собой штамм, депонированный в American Tissue Culture Collection (ATCC) 8 апреля 2014 года, обозначаемый как АОВ D23-100 (25 флаконов) под номером доступа РТА-121157. Штамм D23 *Nitrosomonas eutropha* относится к штамму, обозначаемому как АОВ D23-100, депонированному в American Tissue Culture Collection (ATCC) (10801 University Blvd., Manassas, VA, США) 8 апреля 2014 года, имеющему номер доступа РТА-121157. Последовательность(и) нуклеиновой кислоты, например, геномная последовательность, под номером доступа РТА-121157 включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. В определенных вариантах осуществления *N. eutropha* представляет собой штамм, описанный в заявке РСТ № РСТ/US2015/025909, поданной 15 апреля 2015 года, включенной в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

В определенных вариантах осуществления бактерия с вышеупомянутыми характеристиками последовательности имеет одно или несколько из (1) оптимизированной скорости роста при измерении по времени удвоения, (2) оптимизированной скорости роста при измерении по OD600, (3) оптимизированного состояния окисления NH_4^+ , (4) оптимизированной резистентности к NH_4^+ и (4) оптимизированной резистентности к NO_2^- . Конкретные подкомбинации этих свойств указаны в следующем абзаце.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N.*

eutropha, описанные в настоящем описании, имеют одно или несколько из: (1) оптимизированной скорости роста при измерении по времени удвоения, (2) оптимизированной скорости роста при измерении по OD600, (3) оптимизированной скорости окисления NH_4^+ , (4) оптимизированной резистентности к NH_4^+ и (4)

оптимизированной резистентности к NO_2^- . Например, бактерия может иметь свойства (1) и (2); (2) и (3); (3) и (4); или (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В качестве другого примера бактерия может иметь свойства (1), (2) и (3); (1), (2) и (4); (1), (2) и (5); (1), (3) и (4); (1), (3) и (5); (1), (4) и (5); (2), (3) и (4); (2), (3) и (5), или (3), (4) и (5) из перечня в начале абзаца. В качестве следующего примера, бактерия может иметь свойства (1), (2), (3) и (4); (1), (2), (3) и (5); (1), (2), (4) и (5); (1), (3), (4) и (5); или (2), (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В некоторых вариантах осуществления бактерия имеет свойства (1), (2), (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца.

Настоящее изобретение также относится к аксенической композиции окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, имеющих одно или несколько из: (1) оптимизированной скорости роста при измерении по времени удвоения, (2) оптимизированной скорости роста при измерении по OD600, (3) оптимизированной скорости роста NH_4^+ , (4) оптимизированной резистентности к NH_4^+ и (4)

оптимизированной резистентности к NO_2^- . Например, композиция бактерий может иметь свойства (1) и (2); (2) и (3); (3) и (4); или (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В качестве другого примера композиция бактерий может иметь свойства (1), (2) и (3); (1), (2) и (4); (1), (2) и (5); (1), (3) и (4); (1), (3) и (5); (1), (4) и (5); (2), (3) и (4); (2), (3) и (5), или (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В качестве следующего примера композиция бактерий может иметь свойства (1), (2), (3) и (4); (1), (2), (3) и (5); (1), (2), (4) и (5); (1), (3), (4) и (5); или (2), (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В некоторых вариантах осуществления композиция бактерий имеет свойства (1), (2), (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца.

N. eutropha штамма D23, депонированные в форме 25 флакона 8 апреля 2014 года в патентном депозитории ATCC, обозначаемые как AOB D23-100, под номером доступа РТА-121157, содержат кольцевой геном, имеющий SEQ ID NO: 1 или комплементарную ей последовательность. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления штамм *N. eutropha*, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, например, геном, сходную с SEQ ID NO: 1 или комплементарной ей последовательностью согласно заявке РСТ № РСТ/US2015/025909, поданной 15 апреля 2015 года.

В определенных вариантах осуществления штамм *N. eutropha* содержит последовательность нуклеиновой кислоты, например, геном, которая гибридизуется с SEQ ID NO: 1 согласно заявке РСТ № РСТ/US2015/025909, поданной 15 апреля 2015 года, или с геномом штамма D23, депонированного в форме 25 флаконов в патентном депозитории ATCC 8 апреля 2014 года, обозначаемого AOB D23-100, под номером доступа РТА-121157, или комплементарными ему последовательностями в условиях низкой жесткости, умеренной жесткости, высокой жесткости или очень высокой жесткости, или в других условиях гибридизации, описанных в настоящем описании.

Как используют в рамках изобретения, термин "гибридуется в условиях низкой жесткости, умеренной жесткости, высокой жесткости или высокой жесткости" описывает условия гибридизации и промывания. Руководство по проведению реакций гибридизации может быть найдено в *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6, которая включена в качестве ссылки. В этой ссылке описаны водные

и неводные способы, и могут быть использованы любые из них. Конкретные условия гибридизации, указанные в настоящем описании, являются следующими: 1) условия гибридизации низкой жесткости в 6X хлориде натрия/цитрате натрия (SSC) при приблизительно 45°C, за которыми следует два промывания в 0,2X SSC, 0,1% SDS по меньшей мере при 50°C (температура промываний может быть увеличена до 55°C для условий низкой жесткости); 2) условия гибридизации умеренной жесткости в 6X SSC при приблизительно 45°C, за которыми следует одно или несколько промываний в 0,2X SSC, 0,1% SDS при 60°C; 3) условия гибридизации высокой жесткости в 6X SSC при приблизительно 45°C, за которыми следует одно или несколько промываний в 0,2X SSC, 0,1% SDS при 65°C; 4) условия гибридизации очень высокой жесткости представляют собой 0,5 М фосфат натрия, 7% SDS при 65°C, а затем одно или несколько промываний при 0,2X SSC, 1% SDS при 65°C. Условия очень высокой жесткости (4) являются подходящими условиями и условиями, которые должны использоваться, если нет иных указаний.

Полагают, что штамм D23 не является природным продуктом, а скорее имеет определенные приобретенные мутации и характеристики в ходе длительного периода культивирования и селекции в лаборатории. Например, D23 обладает способностью расти в условиях более чем приблизительно 200 или 250 мМ NH_4^+ в течение более чем 24 часов.

В некоторых вариантах осуществления *N. eutropha*, описанные в настоящем описании, отличаются от встречающихся в природе бактерий увеличенным количеством сидерофоров. Например, *N. eutropha* могут иметь повышенные или сниженные уровни сидерофоров по сравнению с *N. eutropha* C91. Как правило, сидерофоры представляют собой секретируемые хелатирующие железо соединения, которые помогают бактериям улавливать железо из их окружающей среды. Некоторые сидерофоры представляют собой пептиды, а другие представляют собой низкомолекулярные органические соединения.

АОВ, например, *N. eutropha*, предусматриваемые в рамках настоящего изобретения, могут содержать мутации относительно *N. eutropha* дикого типа и/или последовательностей *N. eutropha*, описанных в настоящем описании. Мутации могут происходить, например, спонтанно, могут быть внесены посредством случайного мутагенеза или могут быть внесены посредством направленного мутагенеза. Например, окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, могут быть лишены одного или нескольких генов или регуляторных последовательностей ДНК, которые обычно содержат *N. eutropha* дикого типа. Окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, также могут содержать точковые мутации, замены, инсерции, делеции и/или перестройки относительно отсеквенированного штамма или штамма дикого типа. Окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, могут представлять собой очищенный препарат оптимизированных окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*.

В определенных вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, являются трансгенными. Например, они могут содержать один или несколько генов или регуляторных последовательностей ДНК, которых лишены *N. eutropha* D23 дикого типа. Более конкретно, окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, могут содержать, например, репортерный ген, селективный маркер, ген, кодирующий фермент или промотор (включая индуцибельный или репрессируемый промотор). В некоторых вариантах осуществления дополнительный ген или регуляторная последовательность ДНК встроены в бактериальную хромосому; в некоторых вариантах осуществления дополнительный ген или регуляторная последовательность ДНК

расположены на плазмиде, например, плазмиде, родственной плазмиде, встречающейся в *N. eutropha* N91.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например *N. eutropha*, отличаются по меньшей мере на один нуклеотид от встречающихся в природе бактерий. Например, окисляющие аммиак бактерии, например *N. eutropha*, могут отличаться от встречающихся в природе бактерий в гене или белке, которые являются частью соответствующего каскада, например, каскада метаболизма аммиака, каскада метаболизма мочевины или каскада продукции оксида азота или предшественников оксида азота. Более конкретно, окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, могут содержать мутацию, которая повышает активность каскада, например, путем увеличения уровней или активности элемента этого каскада.

Вышеупомянутые мутации могут быть внесены с использованием любого подходящего способа. Известны многочисленные способы внесения мутаций в данное положение. Например, можно использовать сайт-направленный мутагенез, олигонуклеотид-направленный мутагенез или сайт-специфический мутагенез. Неограничивающие примеры конкретных протоколов мутагенеза описаны, например, в *Mutagenesis*, pp. 13,1-13,105 (Sambrook и Russell, eds., *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Vol. 3, 3.sup.rd ed. 2001). Кроме того, неограничивающие примеры хорошо охарактеризованных протоколов мутагенеза, доступных от коммерческих поставщиков, включают, но не ограничиваются ими, Altered Sites.RTM. II in vitro Mutagenesis Systems (Promega Corp., Madison, Wis.); Erase-a-Base.RTM. System (Promega, Madison, Wis.); GeneTailor.TM. Site-Directed Mutagenesis System (Invitrogen, Inc., Carlsbad, Calif.); QuikChange.RTM. II Site-Directed Mutagenesis System Kits (Stratagene, La Jolla, Calif.); и Transformer.TM. Site-Directed Mutagenesis System Kit (BD-Clontech, Mountain View, Calif.).

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать концентрацию или количество окисляющих аммиак бактерий для по меньшей мере частичного лечения состояния или заболевания. Препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать концентрацию или количество окисляющих аммиак бактерий для изменения, например, уменьшения или увеличения, количества, концентрации или доли бактерий или рода бактерий на поверхности, например, поверхности кожи. Бактерии могут быть непатогенными, или патогенными, или потенциально патогенными.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать от приблизительно 10^8 до приблизительно 10^{14} к.о.е./л. Препарат может содержать по меньшей мере 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 2×10^{11} , 5×10^{11} , 10^{12} , 2×10^{12} , 5×10^{12} , 10^{13} , 2×10^{13} , 5×10^{13} или 10^{14} ; или приблизительно 10^8 - 10^9 , 10^9 - 10^{10} , 10^{10} - 10^{11} , 10^{11} - 10^{12} , 10^{12} - 10^{13} или 10^{13} - 10^{14} к.о.е./л.

В некоторых аспектах препарат может содержать от приблизительно 1×10^9 к.о.е./л до приблизительно 10×10^9 к.о.е./л. В некоторых аспектах препарат может содержать от приблизительно 1×10^9 к.о.е. до приблизительно 10×10^9 к.о.е. В некоторых аспектах препарат может содержать приблизительно от 1×10^9 к.о.е./мл до 10×10^9 к.о.е./мл. В некоторых аспектах препарат может содержать приблизительно 1×10^9 к.о.е./мл.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать от приблизительно 0,1 миллиграмма (мг) до приблизительно 1000 мг окисляющих аммиак бактерий. В некоторых аспектах препарат может содержать от

приблизительно 50 мг до приблизительно 1000 мг окисляющих аммиак бактерий.

Препарат может содержать приблизительно 0,1-0,5 мг, 0,2-0,7 мг, 0,5-1,0 мг, 0,5-2 мг, 0,5-5 мг, 2,5-5 мг, 2,5-7,0 мг, 5,0-10 мг, 7,5-15 мг, 10-15 мг, 15-20 мг, 15-25 мг, 20-30 мг, 25-50 мг, 25-75 мг, 50-75 мг, 50-100 мг, 75-100 мг, 100-200 мг, 200-300 мг, 300-400 мг, 400-500 мг, 500-600 мг, 600-700 мг, 700-800 мг, 800-900 мг, 900-1000 мг, 100-250 мг, 250-500 мг, 100-500 мг, 500-750 мг, 750-1000 мг или 500-1000 мг.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может иметь соотношение масс окисляющих аммиак бактерий и эксципиента, например, фармацевтически приемлемого эксципиента или косметически приемлемого эксципиента, в диапазоне от приблизительно 0,1 грамма на литр до приблизительно 1 грамма на литр. Препарат может иметь соотношение масс окисляющих аммиак бактерий и эксципиента в диапазоне приблизительно 0,1-0,2, 0,2-0,3, 0,1-0,5, 0,2-0,7, 0,5-1,0 или 0,7-1,0 грамма на литр.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать окисляющие аммиак бактерии, имеющие дозу, как описано в настоящем описании, в комбинации с аммиаком, например, концентрацией аммиака от приблизительно 0,01 мМ до приблизительно 100 мМ. Например, концентрация аммиака может составлять приблизительно 0,01, 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6, 1,8, 2,0, 2,2, 2,4, 2,5, 2,6, 2,8, 3,0, 3,2, 3,4, 3,6, 3,8, 4,0, 4,2, 4,4, 4,5, 4,6, 4,8, 5,0, 5,2, 5,4, 5,6, 5,8, 6,0, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7,0, 7,2, 7,4, 7,6, 7,8, 8,0, 8,2, 8,4, 8,6, 8,8, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 35,0, 40,0, 45,0, 50,0, 55,0, 60,0, 65,0, 70,0, 75,0, 80,0, 85,0, 90,0, 95,0, 100,0 мМ.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать, по существу состоять или состоять из окисляющих аммиак бактерий в водном буферном растворе, содержащем, по существу состоящем из или состоящем из дифосфата натрия и хлорида магния, например, 50 мМ Na_2HPO_4 и 2 мМ MgCl_2 . В некоторых аспектах, препарат может содержать приблизительно 1×10^9 к.о.е./мл, 50 мМ Na_2HPO_4 и 2 мМ MgCl_2 в воде.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать компоненты, которые обеспечивают предварительную активацию окисляющих аммиак бактерий. Например, предварительная активация может вовлекать наличие препарата, имеющего окисляющие аммиак бактерии и аммиак.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может быть в форме, которая обеспечивает активацию при доставке индивидууму, например, совместную активацию. Это может обеспечить доставку окисляющих аммиак бактерий и использование аммиака, присутствующего на теле индивидуума до или одновременно с доставкой окисляющих аммиак бактерий. Например, аммиак может происходить из собственного источника индивидуума или может быть нанесен до или одновременно с окисляющими аммиак бактериями. Аммиак может быть предоставлен в отдельном контейнере или может естественным образом происходить из индивидуума.

Препарат может содержать объем от приблизительно 0,1 до приблизительно 100 жидкостных унций (0,003-3 л), от приблизительно 0,2 до приблизительно 50 жидкостных унций (0,006-1,5 л), от приблизительно 0,5 до приблизительно 25 жидкостных унций (0,015-0,75 л), от приблизительно 1,0 до приблизительно 10 жидкостных унций (0,03-0,3 л), от приблизительно 2,0 до приблизительно 7 жидкостных унций (0,06-0,21 л), от приблизительно 3 до приблизительно 5 жидкостных унций (0,09-0,15). В некоторых вариантах осуществления препарат может содержать объем приблизительно 3,4 жидкостных унции (0,01 л).

Препарат может быть предоставлен в контейнере, изготовленном так, чтобы он содержал от приблизительно 0,1 до приблизительно 100 жидкостных унций (0,003-3 л), от приблизительно 0,2 до приблизительно 50 жидкостных унций (0,006-1,5 л), от приблизительно 0,5 до приблизительно 25 жидкостных унций (0,015-0,75 л), от
 5 приблизительно 1,0 до приблизительно 10 жидкостных унций (0,03-0,3 л), от приблизительно 2,0 до приблизительно 7 жидкостных унций (0,06-0,21 л), от приблизительно 3 до приблизительно 5 жидкостных унций (0,09-0,15). В некоторых вариантах осуществления препарат может содержать объем приблизительно 3,4 жидкостных унций (0,01 л). Контейнер может представлять собой однокамерный
 10 контейнер или любой другой контейнер, описанный в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может находиться в состоянии роста. Состояние роста может быть обеспечено путем воздействия на окисляющие аммиак бактерии среды, которая может стимулировать рост. Состояние роста может представлять собой состояние, например, окисляющих
 15 аммиак бактерий в окружающих условиях, которые позволяют немедленную доступность окисляющих аммиак бактерий для конвертирования ионов аммония (NH_4^+) в нитрит (NO_2^-). Состояние роста может включать предоставление окисляющих аммиак бактерий в окружающих условиях, имеющих pH более чем приблизительно 7,6.
 20 Состояние роста также может включать предоставление окисляющих аммиак бактерий в окружающих условиях, включающих аммиак, соли аммония и/или мочевины, микроэлементы и достаточно кислорода и диоксида углерода, как описано выше в разделе 1.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий
 25 может быть в состоянии нагрузки полифосфатами, где состояние или окружающие условия, например, среда, например, культуральная среда, например, среда для роста, может иметь pH менее чем приблизительно 7,4. Уровни по меньшей мере одного из аммиака, ионов аммония и мочевины могут составлять приблизительно от 10 микромоль/л до 200 миллимоль/д. Уровни микроэлементов могут составлять от 0,1
 30 микромоль железа/л до 20 микромоль железа/л. Уровни кислорода могут составлять приблизительно от 5% до 100% насыщения кислородом. Уровни диоксида углерода могут составлять от нуля и до менее чем приблизительно 200 м.д., и уровни фосфатов превышают приблизительно 10 микромоль/л. Целью состояния нагрузки полифосфатами является предоставление АОВ с аммиаком и кислородом, так чтобы мог
 35 продуцироваться АТР, но лишение их диоксида углерода и карбоната, так чтобы они были неспособны использовать этот АТР для фиксации диоксида углерода и вместо этого использовали этот АТР для образования полифосфата, который может запасаться.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может находиться в состоянии сохранения. Состояние сохранения может определяться
 40 как окисляющие аммиак бактерии в окружающей среде, в которой они хранятся для последующего оживления. Состояние сохранения может представлять собой состояние, например, окисляющих аммиак бактерий в окружающих условиях, которые позволяют доступность окисляющих аммиак бактерий после оживления, например, после помещения в окружающие условия, стимулирующие состояние роста, на заданный
 45 период времени.

Состояние сохранения может включать предоставление окисляющих аммиак бактерий в окружающих условиях, имеющих pH менее чем приблизительно 7,4. Состояние сохранения также может включать предоставление окисляющих аммиак бактерий в

окружающих условиях, имеющих аммиак, соли аммиака и/или мочевины, микроэлементы, кислород и низкие концентрации диоксида углерода, как описано выше в разделе 1.

Хранение также можно осуществлять путем хранения при 4°C в течение вплоть до нескольких месяцев. В некоторых вариантах осуществления буфер для хранения может
5 содержать 50 мМ Na_2HPO_4 2 мМ MgCl_2 (pH 7,6).

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии можно криоконсервировать. 1,25 мл окисляющих аммиак бактерий в культуре на середине логарифмической фазы можно добавлять в 2-мл криопробирку с 0,75 мл стерильным 80% глицерином. Пробирки можно осторожно встряхивать и инкубировать при
10 комнатной температуре в течение 15 мин для обеспечения захвата всех криопротекторных средств клетками. Пробирки можно прямо хранить в морозильной камере при -80°C для замораживания и хранения.

Для оживления культур замороженные исходные культуры можно размораживать на льду в течение 10-20 минут, а затем центрифугировать при 8000 xg в течение 3 минут
15 при 4°C. Осадок можно промывать путем суспендирования в 2 мл среды АОВ, после чего проводить другое центрифугирование при 8000xg в течение 3 минут 4°C для уменьшения потенциальной токсичности криопротекторных средств. Осадок можно ресуспендировать в 2 мл среды АОВ, инокулировать в 50 мл среды АОВ, содержащей
20 50 мМ NH_4^+ , и инкубировать в темноте при 30°C путем качания при 200 об./мин.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать окисляющие аммиак бактерии в состоянии сохранения, и/или окисляющие аммиак бактерии в состоянии нагрузки полифосфатами, и/или окисляющие аммиак бактерии в состоянии роста.

Без связи с теорией, путем поддержания окисляющих аммиак бактерий в условиях
25 и в окружающей среде с низким содержанием диоксида углерода с достаточным содержанием кислорода и аммиака, они могут накапливать полифосфат в течение заданного периода времени, например, в течение периода приблизительно одного времени удвоения, например, в течение приблизительно 8-12 часов, например, в течение
30 приблизительно 10 часов. Окисляющие аммиак бактерии могут накапливать достаточно полифосфата для продления их жизнеспособности при хранении, времени хранения и ускорения их оживления. Это может происходить с добавлением буфера и аммиака или без него.

Присутствие достаточного количества запасенного полифосфата может обеспечить
35 для окисляющих аммиак бактерий ресурсы АТР для поддержания метаболической активности даже в отсутствие аммиака и кислорода, и может позволить им пережить воздействия, которые в ином случае были бы фатальными.

Процесс окисления аммиака для генерирования АТР имеет две стадии. Первая стадия представляет собой окисление аммиака в гидроксилламин под действием аммиакмонооксигеназы (Амо), за которым следует конвертирование гидроксилламина
40 в нитрит гидроксилламиноксидоредуктазой (Нао). Электроны с второй стадии (конвертирование гидроксилламина в нитрит) используются для энергообеспечения первой стадии (окисление аммиака в гидроксилламин).

Если окисляющие аммиак бактерии не имеют гидроксилламина для генерирования электронов для Амо, тогда гидроксилламин не доступен для Нао. Например, ацетилен
45 необратимо ингибирует фермент, являющийся ключевым для первой стадии окисления аммиака в нитрит, окисления аммиака в гидроксилламин. После воздействия на АОВ ацетилена Амо необратимо ингибируется и новый фермент должен синтезироваться

до того, как будет образован гидроксилламин. В нормальной совокупной среде биопленки АОВ могут делить и получать гидроксилламин от других АОВ (даже отличающиеся штаммы с отличающейся чувствительностью к ингибиторам) и, таким образом, биопленка может быть более устойчивой к ингибиторам, таким как ацетилен, чем индивидуальный организм. АОВ могут использовать запасенный полифосфат для синтеза новой Амо даже в отсутствии гидроксилламина.

Любой вариант осуществления препарата, композиции или состава окисляющих аммиак бактерий, описанных в настоящем описании, может включать, по существу состоять или состоять из необязательно аксенических окисляющих аммиак бактерий.

3. Композиции, содержащие окисляющие аммиак бактерии; композиции, содержащие *N. eutropha*, например, *N. eutropha* D23

Настоящее изобретение относится, среди прочего, к композициям, содержащим окисляющие аммиак бактерии, например, препарат окисляющих аммиак бактерий или очищенный препарат окисляющих аммиак бактерий, например, натуральный продукт или обогащенный натуральный продукт.

Композиции, описанные в настоящем описании, могут быть предоставлены для применения для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей.

Композиции, содержащие окисляющие аммиак бактерии, например, препарат окисляющих аммиак бактерий или очищенный препарат окисляющих аммиак бактерий, могут быть предоставлены в косметическом продукте или терапевтическом продукте. Препарат может содержать, среди прочего, по меньшей мере одно из аммиака, солей аммония и мочевины. Окисляющие аммиак бактерии могут представлять собой любые окисляющие аммиак бактерии или комбинацию окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании.

Настоящее изобретение относится, среди прочего, к композициям, содержащим *N. eutropha*, например, очищенный препарат оптимизированных *N. eutropha*. В некоторых вариантах осуществления *N. eutropha* в композициях обладают по меньшей мере одним свойством, выбранным из оптимизированной скорости роста, оптимизированной скорости окисления NH_4^+ и оптимизированной резистентности к NH_4^+ .

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композициям с определенным количеством видов. Например, настоящее изобретение относится к композиции, имеющей *N. eutropha* и один другой тип организма, и никаких других типов организмов. В других примерах композиция имеет *N. eutropha* и 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 других типов организмов, и никаких других типов организмов. Другой тип организма в этой композиции может представлять собой, например, бактерию, такую как окисляющая аммиак бактерия. Подходящие окисляющие аммиак бактерии для этой цели включают бактерии рода *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus* или *Nitrosovibrio*.

В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, обеспечивает условия, которые поддерживают жизнеспособность окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*. Например, композиция может стимулировать рост и метаболизм окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, или может обеспечивать состояние покоя (например, замораживание), из которого могут быть восстановлены живые окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*. Когда композиция стимулирует рост или метаболизм, она может содержать воду и/или питательные вещества, которые употребляют окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, например, в качестве аммония,

аммиака, мочевины, кислорода, диоксида углерода или микроэлементов.

В некоторых вариантах осуществления в препарат окисляющих аммиак бактерий может быть включен один или несколько других организмов помимо окисляющих аммиак бактерий. Например, в препарате окисляющих аммиак бактерий может быть
5 предоставлен организм рода, выбранного из группы, состоящей из *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacter* и их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления препарат может быть по существу свободен от других организмов.

Препараты окисляющих аммиак бактерий могут содержать от приблизительно 10^8
10 до приблизительно 10^{14} к.о.е./л. Препарат может содержать по меньшей мере приблизительно 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 2×10^{11} , 5×10^{11} , 10^{12} , 2×10^{12} , 5×10^{12} , 10^{13} , 2×10^{13} , 5×10^{13} или 10^{14} ; или приблизительно 10^8 - 10^9 , 10^9 - 10^{10} , 10^{10} - 10^{11} , 10^{11} - 10^{12} , 10^{12} - 10^{13} или 10^{13} - 10^{14} к.о.е./л. Другие препараты могут содержать приблизительно 2×10^9 , 4×10^9 или
15 8×10^9 к.о.е./л.

Препараты окисляющих аммиак бактерий могут содержать от приблизительно 10^8
до приблизительно 10^{14} к.о.е./мл. Препарат может содержать по меньшей мере приблизительно 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 2×10^{11} , 5×10^{11} , 10^{12} , 2×10^{12} , 5×10^{12} , 10^{13} , 2×10^{13} ,
20 5×10^{13} или 10^{14} ; или приблизительно 10^8 - 10^9 , 10^9 - 10^{10} , 10^{10} - 10^{11} , 10^{11} - 10^{12} , 10^{12} - 10^{13} или 10^{13} - 10^{14} к.о.е./мл. Другие препараты могут содержать приблизительно 2×10^9 , 4×10^9 или 8×10^9 к.о.е./мл.

В некоторых вариантах осуществления препарат может содержать от приблизительно
25 1×10^9 до приблизительно 10×10^9 к.о.е./л. В некоторых вариантах осуществления препарат может содержать приблизительно 3×10^{10} к.о.е., например, 3×10^{10} к.о.е. в сутки. В некоторых вариантах осуществления препарат может содержать от приблизительно 1×10^9 до приблизительно 10×10^9 к.о.е., например, от приблизительно 1×10^9 до
30 приблизительно 10×10^9 к.о.е. в сутки.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать от приблизительно 0,1 миллиграмма (мг) до приблизительно 1000 мг окисляющих аммиак бактерий. В некоторых аспектах препарат может содержать от
35 приблизительно 50 мг до приблизительно 1000 мг окисляющих аммиак бактерий. Препарат может содержать приблизительно 0,1-0,5 мг, 0,2-0,7 мг, 0,5-1,0 мг, 0,5-2 мг, 0,5-5 мг, 2,5-5 мг, 2,5-7,0 мг, 5,0-10 мг, 7,5-15 мг, 10-15 мг, 15-20 мг, 15-25 мг, 20-30 мг, 25-50 мг, 25-75 мг, 50-75 мг, 50-100 мг, 75-100 мг, 100-200 мг, 200-300 мг, 300-400 мг, 400-500 мг, 500-600 мг, 600-700 мг, 700-800 мг, 800-900 мг, 900-1000 мг, 100-250 мг, 250-500 мг, 100-500 мг, 500-750 мг, 750-1000 мг или 500-1000 мг.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может иметь соотношение масс окисляющих аммиак бактерий и эксципиента, например, фармацевтически приемлемого эксципиента или приемлемого с косметической точки зрения эксципиента, в диапазоне от приблизительно 0,1 грамма на литр до
45 приблизительно 1 грамма на литр. Препарат может иметь соотношение масс окисляющих аммиак бактерий и эксципиента в диапазоне приблизительно 0,1-0,2, 0,2-0,3, 0,1-0,5, 0,2-0,7, 0,5-1,0 или 0,7-1,0 грамма на литр.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может представлять собой окисляющие аммиак бактерии в водном буферном растворе,

содержащем, по существу состоящем или состоящем из дифосфата натрия и хлорида магния, например, 50 мМ Na_2HPO_4 и 2 мМ MgCl_2 . Окисляющие аммиак бактерии могут иметь любую концентрацию, описанную в настоящем описании, например, 1×10^9 к.о.е./мл. Препарат может быть предоставлен в буфере с заданным объемом, например, от 5 приблизительно 0,1 до приблизительно 100 жидкостных унций (0,003-3 л), от приблизительно 0,2 до приблизительно 50 жидкостных унций (0,006-1,5 л), от приблизительно 0,5 до приблизительно 25 жидкостных унций (0,015-0,75 л), от 10 приблизительно 1,0 до приблизительно 10 жидкостных унций (0,03-0,3 л), от приблизительно 2,0 до приблизительно 7 жидкостных унций (0,06-0,21 л), от приблизительно 3 до приблизительно 5 жидкостных унций (0,09-0,15). В некоторых вариантах осуществления препарат может быть предоставлен в контейнере. препарат может быть предоставлен в контейнере, изготовленном так, чтобы он вмещал приблизительно 3,4 жидкостных унции (0,01 л) или любой другой объем, описанный в настоящем описании. Препарат может быть в форме, которая может быть способна к 15 аэрозольированию, разбрызгиванию или распылению, т.е. в форме дымки, например, в продукте АО+ дымки.

Преимущественно, состав может иметь значение рН, которое обеспечивает жизнеспособность АОВ, например, *N. eutropha*, например, метаболическую активность. Мочевина может гидролизиться в аммиак и может повышать рН до 7-8. АОВ являются 20 очень активными в этом диапазоне рН и будут снижать рН до приблизительно 6, где NH_3 конвертируется в аммоний и недоступен. Также являются приемлемыми более низкие уровни рН, например, приблизительно рН 4.

Окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, можно комбинировать с одним или несколькими приемлемыми с фармацевтической или косметической точки зрения 25 эксципиентами. В некоторых вариантах осуществления "фармацевтически приемлемый эксципиент" относится к фармацевтически приемлемому материалу, композиции или носителю, таким как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, растворитель или инкапсулирующий материал. В некоторых вариантах осуществления каждый эксципиент является "фармацевтически приемлемым" с точки зрения совместимости с другими 30 ингредиентами фармацевтического состава и пригодным для применения в контакте с тканью или органом человека и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергического ответа, иммуногенности или других проблем или осложнений, в соответствии с приемлемым соотношением польза/риск. См., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, Pa., 2005; 35 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.; Rowe et al., Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, Fla., 2009.

В некоторых вариантах осуществления приемлемый с косметической точки зрения 40 эксципиент относится к приемлемому с косметической точки зрения материалу, композиции или носителю, таким как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, растворитель или инкапсулирующий материал. В некоторых вариантах осуществления каждый эксципиент является приемлемым с косметической точки зрения в отношении совместимости с другими ингредиентами косметического состава и пригодным для 45 применения в контакте с тканью или органом человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергического ответа, иммуногенности или других проблем или осложнений, в соответствии с приемлемым соотношением польза/риск.

Хотя является возможным введение активного ингредиента, например, окисляющих

аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, отдельно, во многих вариантах осуществления он присутствует в фармацевтическом составе или композиции. Таким образом, настоящее изобретение относится к фармацевтическому составу (препарату или композиции) или косметическому составу (препарату или композиции), содержащим окисляющие аммиак бактерии и фармацевтически приемлемый эксципиент или косметически приемлемый эксципиент. Фармацевтические композиции и косметические композиции могут принимать форму состава, как описано ниже.

Фармацевтические и косметические составы (например, препараты или композиции), описанные в настоящем описании, могут включать составы, пригодные для перорального (например, посредством или для целей депонирования в желудочно-кишечном тракте), парентерального (включая подкожный, внутрикожный, внутримышечный, внутривенный и внутрисуставной), ингаляционного (включая порошки или дымки, которые могут образовываться посредством различных типов отмеренных доз, аэрозолей под давлением, небулайзеров или инсуффляторов, и включая интраназальный (назальный) или через легкие (легочный)), ректального и местного (включая дермальное, трансдермальное, трансмукозальное, буккальное, сублингвальное и внутриглазное) введение, хотя наиболее пригодный путь может зависеть, например, от состояния и нарушения реципиента.

Составы (например, препараты или композиции) могут удобным образом присутствовать в единичной дозированной форме и могут быть получены любыми способами, известными в области фармацевтики или косметологии. Как правило, способы включают стадию объединения активного ингредиента (например, окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*) с фармацевтическим или косметическим носителем, который представляет собой один или несколько вспомогательных ингредиентов. Как правило, составы получают посредством однородного и равномерного объединения активного ингредиента с жидкими носителями или тонкоизмельченными твердыми носителями или и с теми, и с другими, а затем, если необходимо, придания продукту формы желаемого состава.

Составы могут быть предоставлены в качестве отдельных единиц, таких как капсулы, крахмальные капсулы или таблетки, каждая из которых содержит заданное количество, например, *N. eutropha*, в качестве порошка или гранул; в качестве раствора или суспензии в водной жидкости или неводной жидкости; или в качестве жидкой эмульсии типа "масло в воде" или эмульсии типа "вода в масле". Активный ингредиент также может присутствовать в качестве болуса, электуария или пасты. Различные фармацевтически приемлемые носители и их составы описаны в стандартных справочниках по составлению, например, Remington's Pharmaceutical Sciences, E. W. Martin. Также см. Wang, Y. J. and Hanson, M. A., Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report No. 10, Supp. 42:2 S, 1988.

Композиции окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, можно вводить, например, в форме, пригодной для немедленного высвобождения или пролонгированного высвобождения. Подходящие примеры систем с замедленным высвобождением включают пригодные полимерные материалы, например, полупроницаемые полимерные матриксы в виде имеющих форму изделий, например, пленок или микрокапсул; пригодные гидрофобные материалы, например, в качестве эмульсии в приемлемом масле; или ионообменные смолы. Системы с замедленным высвобождением можно вводить перорально; ректально; парентерально; внутрь мочевого пузыря; интравагинально; внутрибрюшинно; местным путем, например, в качестве порошка, мази, геля, капель или трансдермального пластыря; буккально или

в качестве спрея.

Препараты для введения можно подходящим образом составлять для достижения контролируемого высвобождения окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*. Например, фармацевтические композиции могут быть в форме частиц, содержащих
 5 один или несколько из биodeградируемых полимеров, полисахаридных желирующих и/или биоадгезивных полимеров, или амфифильных полимеров. Эти композиции демонстрируют определенные признаки биосовместимости, которые позволяют контролируемое высвобождение активного вещества. См. патент США № 5700486.

Иллюстративные композиции включают суспензии, которые могут содержать,
 10 например, микрокристаллическую целлюлозу для придания объема, альгиновую кислоту или альгинат натрия в качестве суспендирующего вещества, метилцеллюлозу в качестве средства для усиления вязкости, дикальцийфосфат, крахмал, стеарат магния и/или лактозу и/или другие эксципиенты, связующие вещества, наполнители, разрыхлители, разбавители и смазывающие вещества, маннит, лактозу, сахарозу и/или циклодекстрины.
 15 Также в такие составы могут быть включены высокомолекулярные эксципиенты, такие как целлюлозы (avicel) или полиэтиленгликоли (PEG). Такие составы также могут включать эксципиент для способствования прилипанию к слизистой оболочке, такой как гидроксипропилцеллюлоза (HPC), гидроксипропилметилцеллюлоза (HPMC), натрий карбоксиметилцеллюлоза (SCMC), сополимер малеинового ангидрида (например,
 20 Gantrez) и средства для контроля высвобождения, такие как полиакриловый сополимер (например, Carborol 934). Также можно добавлять смазывающие вещества, вещества, способствующие скольжению, вкусовые добавки, красители и стабилизаторы для простоты изготовления и применения. Поверхностно-активное вещество может представлять собой цвиттер-ионное поверхностно-активное вещество, неионное
 25 поверхностно-активное вещество или анионное поверхностно-активное вещество.

Эксципиенты, такие как поверхностно-активные вещества, которые можно использовать в вариантах осуществления настоящего изобретения, могут включать один или несколько из кокаmidопропилбетаина (ColaTeric COAB), сложного эфира полиэтилена сорбита (например, Tween 80), этоксилированного лаурилового спирта
 30 (RhodaSurf 6 NAT), натрий лауретсульфата/лаурилглюкозида/кокаmidопропилбетаина (Plantapon 611 L UP), натрий лауретсульфата (например, RhodaPex ESB 70 NAT), алкилполиглюкозида (например, Plantaren 2000 N UP), натрий лауретсульфата (Plantaren 200), мыла Dr. Bronner's Castile, детского мыла Dr. Bronner's Castile, лаураминооксида (ColaLux Lo), додецилсульфата натрия (SDS), полисульфоната алкилполиглюкозида
 35 (PolySufanate 160 P), лаурилсульфата натрия (Stepanol-WA Extra K) и их комбинаций. Мыло Dr. Bronner's Castile и детское мыло Dr. Bronner содержат воду, органическое кокосовое масло, гидроксид калия, органическое оливковое масло, органическое конопляное масло по программе справедливой торговли, органическое мало жожоба, лимонную кислоту и токоферол.

В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активные вещества можно использовать с окисляющим аммиак бактериями в количествах, которые позволяют происходить продукции нитритов. В некоторых вариантах осуществления препарат может иметь менее чем от приблизительно 0,0001% до приблизительно 10%
 40 поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления препарат может иметь от приблизительно 0,1% до приблизительно 10% поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления используемая концентрация поверхностно-активного вещества может составлять от приблизительно 0,0001% до приблизительно 10%. В некоторых вариантах осуществления препарат может быть по

существу свободен от поверхностно-активного вещества.

В некоторых вариантах осуществления состав, например, препарат, может включать другие компоненты, которые могут повышать эффективность окисляющих аммиак бактерий, поддерживать или повышать жизнеспособность окисляющих аммиак бактерий или улучшать лечение или симптом.

В некоторых вариантах осуществления в препарат может быть включен хелатор. Хелатор может представлять собой соединение, которое может связываться с другим соединением, например, металлом. Хелатор может обеспечивать помощь в удалении нежелательного соединения из окружающей среды или может действовать защитным образом для снижения или устранения контакта конкретного соединения с окружающей средой, например, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий, например, эксципиента. В некоторых вариантах осуществления препарат может быть по существу свободен от хелатора.

Составы также могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические средства, которые препятствуют росту нежелательных бактерий, растворенные вещества и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие вещества и загустители. Составы могут присутствовать в однократных или многократных контейнерах, например, закрытых ампулах и флаконах, и могут храниться в высушенном сублимационном сушкой (лиофилизированном) состоянии, требующим только добавления стерильного жидкого носителя, например, солевого раствора или воды для инъекций, непосредственно перед применением. Из порошков, гранул и таблеток описанного выше типа можно приготавливать растворы и суспензии для немедленного приема. Иллюстративные композиции включают растворы или суспензии, которые могут содержать, например, пригодные нетоксичные фармацевтически приемлемые разбавители или растворители, такие как маннит, 1,3-бутандиол, вода, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия или другие подходящие диспергирующие или смачивающие и суспендирующие вещества, включая синтетические моно- или диглицериды, и жирные кислоты, включая олеиновую кислоту или Stearaphor. Водный носитель может представлять собой, например, изотонический буферный раствор при pH от приблизительно 3,0 до приблизительно 8,0, pH от приблизительно 3,5 до приблизительно 7,4, например, от 3,5 до 6,0, например, от 3,5 до приблизительно 5,0. Пригодные буферы включают буферы цитрат натрия-лимонная кислота и фосфат натрия-фосфорная кислота, и ацетат натрия/уксусная кислота. В некоторых вариантах осуществления композиция не включает окислителей.

Эксципиенты, которые могут быть включены, представляют собой, например, белки, такие как сывороточный альбумин человека или препараты плазмы. Если желательно, фармацевтическая композиция также может содержать небольшие количества нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачивающие вещества или эмульгаторы, консерванты, и pH-буферные средства и т.п., например, ацетат натрия или сорбитан монолаурат. В некоторых вариантах осуществления эксципиенты, например, фармацевтически приемлемый эксципиент или приемлемый с косметической точки зрения эксципиент может содержать антиадгезив, связующее вещество, покрытие, разрыхлитель, наполнитель, вкусовую добавку, краситель, смазывающее вещество, вещество, способствующее скольжению, сорбент, консервант или подсластитель. В некоторых вариантах осуществления препарат может быть по существу свободен от эксципиентов.

В некоторых вариантах осуществления препарат может быть по существу свободен от одного или нескольких соединений или веществ, приведенных в описании.

Иллюстративные композиции для введения аэрозоля включают растворы в солевом растворе, которые могут содержать, например, бензиловый спирт или другие пригодные консерванты, усилители всасывания для повышения биодоступности и/или другие солюбилизующие или диспергирующие средства. Удобно, чтобы композиции для аэрозольного введения окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, доставлялись в форме аэрозольного спрея, поступающего из насоса. В других вариантах осуществления композиции для аэрозольного введения окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, доставляются в форме аэрозольного спрея, поступающего из упаковки под давлением или небулайзера, с использованием подходящего пропеллента, например, дихлордифторметана, трихлорфторметана, дихлортетрафторэтана, диоксида углерода или другого подходящего газа. В случае аэрозоля под давлением дозированная единица может быть определена путем предоставления клапана для доставки отмеренного количества. Капсулы и кассеты, например, из желатина, могут быть составлены так, чтобы они содержали порошковую смесь *N. eutropha* и подходящей порошковой основы, например, лактозы или крахмала. В определенных вариантах осуществления *N. eutropha* вводят в качестве аэрозоля посредством клапана с отмеренной дозой через адаптер для аэрозоля, также известный как приводной механизм. Необязательно, также включен стабилизатор и/или включены пористые частицы для глубокой доставки в легкое (например, см. патент США № 6447743). Композиция или препарат могут быть в форме, которая может быть способной к аэрозолированию, разбрызгиванию или распылению, т.е. в форме дымки. Препарат окисляющих аммиак бактерий может представлять собой окисляющие аммиак бактерии в водном буферном растворе, содержащем, по существу состоящем из или состоящем из дифосфата натрия и хлорида магния, например, 50 мМ Na₂HPO₄ и 2 мМ MgCl₂, и который может обозначаться как АО+ дымка на протяжении настоящего описания. Препарат АО+ дымки включает окисляющие аммиак бактерии в концентрации 1×10⁹ к.о.е./мл в водном буферном растворе 50 мМ Na₂HPO₄ и 2 мМ MgCl₂.

Составы могут быть предоставлены с носителями, такими как масло какао, синтетические сложные эфиры глицеридов или полиэтиленгликоль. Такие носители, как правило, являются твердыми при обычных температурах, но разжижаются и/или растворяются при температуре тела, высвобождая окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*.

Иллюстративные композиции для местного введения включают местный носитель, такой как Plastibase (гель минерального масла с полиэтиленом). В некоторых аспектах композиция и/или эксципиент могут быть в форме одного или нескольких из жидкости, твердого вещества или геля. Например, жидкие суспензии могут включать, но не ограничиваются ими, воду, солевой раствор, фосфатно-солевой буфер, окисляющий аммиак буфер для хранения или водный буферный раствор, содержащий, например, Na₂HPO₄ и MgCl₂, например, 50 мМ Na₂HPO₄ и 2 мМ MgCl₂.

Составы гелей могут включать, но не ограничиваются ими, агар, диоксид кремния, полиакриловую кислоту (например, Carbopol®), карбоксиметилцеллюлозу, крахмал, гуаровую камедь, альгинат или хитозан.

В некоторых вариантах осуществления состав может быть дополнен источником аммиака, включающим, но не ограничивающимся ими, хлорид аммония или сульфат аммония.

В некоторых вариантах осуществления композиция окисляющих аммиак бактерий, например, композиция *N. eutropha*, составлена для повышения проникновения NO в

кожу. Гелеобразующий материал, такой как желе КУ или различные гели для волос, могут обеспечивать диффузионный барьер для потери NO в окружающий воздух и, таким образом, могут повышать всасывание NO кожей. Уровень NO в коже обычно не превышает в значительной степени 20 нМ/л, поскольку этот уровень активирует GC и может вызвать локальное расширение сосудов и окислительное разрушение избытка NO.

Следует понимать, что в дополнение к ингредиентам, конкретно упомянутым выше, составы, как описано в настоящем описании, могут включать другие средства, общепринятые в данной области для рассматриваемого типа состава.

Состав, например, препарат, например, композиция, может быть предоставлен в контейнере, системе доставки или устройстве для доставки, имеющем массу, включая или не включая содержимое контейнера, которая может составлять менее чем приблизительно 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 или 2000 граммов.

Подходящие единичные дозированные составы представляют собой составы, содержащие эффективную дозу, как описано в настоящем описании выше, окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, или подходящую ее часть.

Терапевтически эффективное количество окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, можно вводить в качестве однократной импульсной дозы, в качестве болюсной дозы или в качестве импульсных доз, вводимых с течением времени. Таким образом, в импульсных дозах предусматривается болюсное введение окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, за которым следует период времени, когда окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят индивидууму, а затем проводят второе болюсное введение. В конкретных неограничивающих примерах импульсные дозы вводят в течение суток, в течение недели или в течение месяца.

Терапевтически эффективное количество окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, можно вводить в форме аэрозоля или дымки в качестве однократного распыления или накачивания или множества распылений или накачиваний. При однократном введении может осуществляться одно или несколько распылений или накачиваний. Терапевтически эффективное количество может быть результатом однократного введения или многократных введений в течение одних или нескольких суток, в течение одной или нескольких недель, в течение одного или нескольких месяцев или более.

Терапевтически эффективное количество может представлять собой количество, достаточное для улучшения одного или нескольких из количества угрей, оценки очагов PИH/PИE, данных SkinDex16, модифицированной 10-бальной шкалы Гриффитса, оценки переносимости, результатов измерения на Sebumeter и исследовательской общей шкалы угревой сыпи (IGA), через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 недели.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий, например, состав, например, композицию, можно применять в течение заданного количества дней. Оно может быть основано, например, по меньшей мере частично, на тяжести состояния или заболевания, ответе на лечение, применяемой дозировке и частоте дозирования. Например, препарат можно применять в течение приблизительно 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 суток, в течение приблизительно 1 месяца, в течение приблизительно 2 месяцев, в течение приблизительно 3 месяцев. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят в течение неопределенного периода времени, например, в течение более чем одного года, более 5 лет, более 10 лет, более 15 лет,

более 30 лет, более 50 лет, более 75 лет. В некоторых аспектах препарат можно применять в течение приблизительно 16 суток. В некоторых аспектах препарат можно применять в течение приблизительно 4 недель.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий, например, состав, например, композицию, можно применять заданное количество раз в сутки. Оно может быть основано, например, по меньшей мере частично, на тяжести состояния или заболевания, резистентности к лечению, применяемой дозировке и частоте дозы. Например, препарат можно применять 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 раз в сутки.

В некоторых вариантах осуществления препарат можно применять один раз в сутки. В других вариантах осуществления препарат можно применять два раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления препарат можно применять в виде первого заданного количества в течение определенного количества дней и второго заданного количества в течение определенного следующего количества дней. В некоторых вариантах осуществления препарат можно применять в течение приблизительно 16 суток. В некоторых аспектах препарат можно применять в течение приблизительно 4 недель.

Потребительские товары

Окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, могут быть объединены с различными потребительскими товарами, и примеры таких товаров приведены ниже и могут включать составы, композиции или препараты, описанные на протяжении настоящего описания. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, ассоциированные с продуктом, смешивают с продуктом, например, распределяют равномерно по продукту, и в некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, ассоциированные с продуктом, наслаивают на продукт.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с порошком. Порошки, как правило, представляют собой твердые вещества с малыми частицами, которые не склеены друг с другом и которые могут свободно течь под наклоном. Иллюстративные порошки для потребительского применения включают тальк и некоторые косметические средства (например, порошковая основа).

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии объединены с косметическим средством. Косметическое средство может представлять собой вещество для местного применения, предназначенное для изменения внешнего вида индивидуума, например, жидкий состав, порошковую основу, румяна или губную помаду, и они могут быть указаны как препарат. Косметическое средство может представлять собой любое вещество, указанное в правилах Food and Drug Administration, например, в соответствии с 21 C.F.R. 720.4.

Препарат, например, косметическое средство, может представлять собой по меньшей мере одно из детских продуктов, например, детский шампунь, детский лосьон, детское масло, детский порошок, детский крем; средства для ванн, например, масло для ванн, таблетку, соль, пену для ванн, капсулу для ванн; средства для макияжа глаз, например, карандаш для бровей, карандаш для подведения глаз, тень для глаз, лосьон для глаз, средство для удаления макияжа с глаз, тушь; парфюмерного изделия, например, одеколон, туалетную воду, духи, порошок (пудра и тальк), саше; средства для волос, например, кондиционеры для волос, спреи для волос, средства для выпрямления волос, средства для химической завивки, ополаскиватели, шампуни, тоники, обертки, добавки

для ухода за волосами, наборы для завивки; средства для окрашивания волос, например, краски и красители для волос, оттеночные средства для волос, оттеночные ополаскиватели, оттеночные шампуни, осветлители волос с красителем, отбеливатели для волос; средств для макияжа, например, пудру, тональный крем, краски для ног и тела, губную помаду, основы для макияжа, румяна, фиксаторы макияжа; средств для маникюра, например, базовый слой и подслой, смягчители кутикулы, кремы и лосьоны для ногтей, средства для удлинения ногтей, лак и эмаль для ногтей, средства для удаления лака и эмали для ногтей; продуктов для гигиены полости рта, например, средства для чистки зубов, средства для полоскания полости рта и освежители дыхания; мыла для ванн и детергентов, дезодорантов, средств для спринцевания, женских гигиенических дезодорантов; средств для бритья, например, лосьонов после бритья, смягчители для бороды, тальк, лосьоны до бритья, крем для бритья, мыло для бритья; средств для ухода за кожей, например, очищающих средств, средств для депиляции, порошки и спреи для лица и шеи, тела и рук, стоп, увлажняющие средства, ночные средства, густые маски, освежители кожи; и средств для загара, например, гели, кремы и жидкости и средства для искусственного загара.

В некоторых вариантах осуществления составы, композиции, или препараты, описанные в настоящем описании, могут содержать, могут быть предоставлены в качестве или могут быть помещены по меньшей мере в одно из детского продукта, например, детского шампуня, детского лосьона, детского масла, детского порошка, детского крема; средства для ванн, например, масла для ванн, таблетки, соли, пены для ванн, капсулы для ванн; порошка (пудра и тальк), саше; средства для волос, например, кондиционеров для волос, ополаскивателей, шампуней, тоников, пудр, смягчителей кутикулы, кремов и лосьонов для ногтей, продуктов для гигиены полости рта, средств для полоскания полости рта, мыл для ванн, средств для спринцевания, женских гигиенических дезодорантов; средств для бритья, например, лосьонов после бритья, средств для ухода за кожей, например, очищающих средств, порошков и спреев для лица и шеи, тела и рук, стоп, увлажняющих средств, ночных средств, густых масок, освежителей кожи; и средств для загара, например, гелей, кремов и жидкостей.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с косметическим средством. Косметическое средство может представлять собой вещество для местного применения, предназначенное для изменения внешнего вида индивидуума, например, жидкую основу, порошковую основу, румяна или губную помаду. В эти косметические средства могут быть добавлены другие компоненты по выбору специалиста в области составления косметических средств, например, такие как вода, минеральное масло, краситель, отдушка, алоэ, глицерин, хлорид натрия, бикарбонат натрия, pH-буферы, УФ-блокирующие средства, силиконовое масло, натуральные масла, витамин Е, концентраты трав, молочная кислота, лимонная кислота, тальк, глина, карбонат кальция, карбонат магния, оксид цинка, крахмал, мочевины и эриторбовая кислота, или любой другой эксципиент, известный специалисту в данной области, включая эксципиенты, описанные в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления препарат может быть помещен в или предоставлен в качестве порошка, косметического средства, крема, карандаша, аэрозоля, например, дымки, мази, салфетки или повязки.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с кремом. Крем может представлять собой жидкость, содержащую загуститель, и обычно имеет консистенцию, которая позволяет его равномерное распределение на коже. Иллюстративные кремы включают увлажняющий лосьон, крем

для лица и лосьон для тела.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с карандашом. Карандаш, как правило, представляет собой твердое вещество, которое, когда его приводят в контакт с поверхностью, переносит некоторое содержимое карандаша на поверхность. Иллюстративные карандаши включают дезодорирующий карандаш, губную помаду, бальзам для губ в форме карандаша и солнцезащитные аппликаторы-карандаши.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с аэрозолем. Аэрозоль, как правило, представляет собой коллоидное вещество из мелких твердых частиц или мелких капель жидкости в газе, таком как воздух. Аэрозоли могут быть получены путем помещения *N. eutropha* (и необязательно носителей) в емкость под давлением, а затем открытия клапана для высвобождения содержимого. Контейнер может быть сконструирован для того, чтобы прилагать уровни давления, которые совместимы с жизнеспособностью *N. eutropha*. Например, высокое давление может прилагаться в течение только короткого периода времени и/или давление может быть достаточно низким, чтобы снизить жизнеспособность. Примеры используемых пользователем аэрозолей включают солнцезащитное средство, дезодорант, парфюмерные изделия, лак для волос и репеллент. Аэрозоль может указан как дымка.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с мазью. Мазь может представлять собой средство для местного нанесения, имеющее жидкую или подобную крему консистенцию, предназначенное для защиты кожи или стимуляции заживления. Примеры мазей включают мази от ожогов и мази для увлажнения кожи.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с салфеткой. Салфетка может представлять собой гибкий материал, пригодный для местного нанесения жидкости или крема на кожу. Салфетка может быть, например, на основе бумаги или на основе ткани. Иллюстративные салфетки включают ткани и влажные салфетки.

Композиции, содержащие окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, также могут содержать одно или несколько из увлажняющего средства, дезодорирующего средства, отдушки, красителя, репеллента, очищающего средства или УФ-блокирующего средства.

Например, увлажняющее средство может представлять собой средство, которое уменьшает или предотвращает сухость кожи. Иллюстративные увлажняющие средства включают увлажнители (например, мочевины, глицерин, альфагидроксикислоты и диметикон) и смягчающие средства (например, ланолин, минеральное масло и вазелин). Увлажняющие средства могут быть включены, например, в окисляющие аммиак бактерии, например, в содержащие *N. eutropha* кремы, бальзамы, лосьоны и солнцезащитные средства.

Дезодорирующее средство может представлять собой средство, которое уменьшает нежелательные запахи. Дезодорирующее средство может действовать, прямо нейтрализуя запахи, препятствуя потоотделению или препятствуя росту продуцирующих запах бактерий. Иллюстративные дезодорирующие средства включают соли алюминия (например, хлорид алюминия или хлоргидрат алюминия), циклометикон, тальк, пищевую соду, эфирные масла, минеральные соли, хмель и гаммеллис. Дезодорирующие средства, как правило, присутствуют в дезодорантах в виде спрея или карандаша, и также могут встречаться в некоторых мылах и одежде.

Репеллент может представлять собой средство, которое можно наносить на поверхности (например, кожу), которое препятствует посадке комаров и других членистоногих на поверхность. Репелленты включают DEET (N,N-диэтил-м-толуамид), п-ментан-3,8-диол (PMD), икаридин, непеталактон, цитронелловое масло, масло семян маргозы, восковницу обыкновенную, диметилкарбат, трициклодеценилаллиловый эфир и IR3535 (этиловый эфир 3-[N-бутил-N-ацетил]-аминопропионовой кислоты).

Очищающее средство может представлять собой средство, которое удаляет грязь или нежелательные бактерии с поверхности, такой как кожа. Иллюстративные очищающие средства включают кусковое мыло, жидкие мыла и шампуни.

УФ-блокирующее средство может представлять собой средство, которое можно наносить на поверхность для уменьшения количества ультрафиолетового излучения, которое поверхность получает. УФ-блокирующее средство может блокировать лучи УФ-А и/или УФ-В. УФ-блокирующее средство может функционировать посредством поглощения, отражения или рассеяния УФ. Иллюстративные УФ-блокирующие средства включают поглощающие средства, например, гомосалат, октисалат (также называемый октилсалицилатом), октиноксалат (также называемый октилметоксициннаматом или ОМС), октокрилен, оксibenзон и авобензон, и отражающие средства (например, диоксид титана и оксид цинка). УФ-блокирующие средства, как правило, присутствуют в солнцезащитных средствах и также могут встречаться в кремах для кожи и некоторых косметических средствах.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с кондиционером. Кондиционер, как правило, относится к веществу с похожей на крем консистенцией, которое может быть нанесено на волосы для улучшения их внешнего вида, прочности или послушности.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с тканью. Ткань, как правило, относится к гибкому материалу, пригодному для преобразования в одежду, например, имеющему достаточную прочность материала для выдерживания каждодневного движения носящего владельца. Ткань может быть волокнистой, тканной или вязаной; она может быть изготовлена из природного материала или синтетического материала. Иллюстративные материалы тканей включают хлопок, лен, шерсть, рами, шелк, джинсовую ткань, кожу, нейлон, полиэфир и спандекс, и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с пряжей. Пряжа обычно относится к длинному, тонко spunному эластичному материалу, который пригоден для вязки или тканья. Пряжа может быть изготовлена, например, из шерсти, хлопка, полиэфира и их смесей.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с нитью. Нить обычно относится к длинному тонко spunному эластичному материалу, который пригоден для шитья. Нить обычно имеет меньший диаметр, чем пряжа. Нить может быть изготовлена, например, из хлопка, полиэфира, нейлона, шелка и их смесей.

Предметы одежды, например, такие как обувь, стельки, пижамы, тапки, ремни, шляпы, рубашки, нижнее белье, спортивная одежда, шлемы, полотенца, перчатки, носки, бандажи и т.п., также можно обрабатывать окисляющими аммиак бактериями, например, *N. eutropha*. Постельные принадлежности, включая простыни, подушки, наволочки и одеяла, также можно обрабатывать окисляющими аммиак бактериями, например, *N. eutropha*. В некоторых вариантах осуществления области кожи, которые не могут быть вымыты в течение некоторого периода времени, также можно приводить

в контакт с окисляющими аммиак бактериями, например, *N. eutropha*. Например, для кожи, заключенной в ортопедические гипсовые повязки, которые иммобилизуют поврежденные конечности в процессе заживления и области вблизи повреждений, которые необходимо держать сухими для надлежащего заживления, такие как зашитые раны, может быть полезным контакт с окисляющими аммиак бактериями, например, *N. eutropha*.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к аксессуарам, включающим штамм *N. eutropha*, как описано в настоящем описании. Аксессуар может представлять собой легкое изделие, которое может тесно прилегать к телу пользователя, поскольку оно не препятствует способности передвижения. Примеры аксессуаров включают наручные часы, браслет, обруч для волос, резинку для волос, сетку для волос, шапочки для душа, шляпы, парики и ювелирные изделия. Аксессуар, содержащий штамм окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, описанный в настоящем описании, может обеспечить, например, в концентрации, которая обеспечивает одно или несколько из лечения или предупреждения кожного нарушения, лечение или предупреждение заболевания или состояния, обусловленных низкими уровнями нитритов, лечение или предупреждение запаха тела, лечение для предоставления оксида азота индивидууму или лечения для ингибирования роста микробов.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, объединены с продуктом, предназначенным для контакта с волосами, например, щеткой, расческой, шампунем, кондиционером, обручем для волос, резинкой для волос, сеткой для волос, шапочками для душа, шляпами и париками. Оксид азота, образованный на воздухе вдали от поверхности кожи может улавливаться в шляпу, шарф или маску для лица и направляться во вдыхаемый воздух.

Изделия, контактирующие с поверхностью тела человека, такие как памперс, могут быть объединены с окисляющими аммиак бактериями, например, *N. eutropha*. Поскольку памперсы предназначены для удержания и вмещения мочи и кала, продуцируемых индивидуумами с недержанием, мочевины в моче и кале может гидролизироваться бактериями кожи и кала в свободный аммиак, который является раздражающим и может вызвать опрелость. Включение бактерий, которые метаболизируют мочевины в нитрит или нитрат, таких как окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, может препятствовать высвобождению свободного аммиака и может высвобождать нитрит и в конечном итоге NO, который может способствовать поддержанию здоровой кожи как для детей, так и для взрослых с недержанием. Высвобождение оксида азота в памперсах также может иметь противомикробные эффекты на вызывающие заболевания организмы, присутствующие в кале человека. Этот эффект может продолжаться даже после выбрасывания одноразовых памперсов в качестве отходов и может снижать частоту передачи заболевания посредством контакта с грязными одноразовыми памперсами.

В некоторых вариантах осуществления продукт, содержащий окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, является упакованным. Упаковка может служить для сжатия продукта или защиты его от повреждения, грязи или деградации. Упаковка может содержать, например, пластмассу, бумагу, картон или древесину. В некоторых вариантах осуществления упаковка является непроницаемой для бактерий. В некоторых вариантах осуществления упаковка является проницаемой для кислорода и/или диоксида углерода.

4. Способы лечения окисляющими аммиак бактериями, например, *N. eutropha*

Настоящее изобретение относится к различным способам лечения заболеваний и

состояний с использованием окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*. Окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, которые можно использовать для лечения заболеваний и состояний, включают все композиции окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, описанные в настоящей заявке, например, очищенный препарат оптимизированных окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, штамма D23.

Окисляющие аммиак бактерии, вводимые для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, могут быть выбраны из группы, состоящей из *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* и их комбинаций. В некоторых аспектах окисляющие аммиак бактерии могут представлять собой *Nitrosomonas eutropha* (*N. eutropha*). В некоторых аспектах окисляющие аммиак бактерии представляют собой *N. eutropha* D23, имеющие номер доступа ATCC PTA-121157.

Могут быть предоставлены способы для введения или доставки терапевтического продукта или косметического продукта.

Окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, можно использовать для лечения кожных состояний, таких как угревая сыпь, розацеа, экзема или псориаз.

В определенных вариантах осуществления изобретение относится к применению для лечения кожного состояния или заболевания (например, ингибирования роста микроорганизмов на коже индивидуума), окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенической композиции *N. eutropha*, имеющей одно или несколько из:

(1) оптимизированной скорости роста, (2) оптимизированной скорости окисления NH_4^+ , (3) оптимизированной резистентности к NH_3 , (4) оптимизированной резистентности к

NH_4^+ и (5) оптимизированной резистентности к NO_2^- . Например, композиция аксенических *N. eutropha* может иметь свойства (1) и (2); (2) и (3); (3) и (4); или (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В качестве другого примера композиция аксенических *N. eutropha* может иметь свойства (1), (2) и (3); (1), (2) и (4); (1), (2) и (5); (1), (3) и (4); (1), (3) и (5); (1), (4) и (5); (2), (3) и (4); (2), (3) и (5), или (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В качестве следующего примера, необязательно композиция аксенических *N. eutropha* может иметь свойства (1), (2), (3) и (4); (1), (2), (3) и (5); (1), (2), (4) и (5); (1), (3), (4) и (5); или (2), (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца. В некоторых вариантах осуществления композиция аксенических *N. eutropha* имеет свойства (1), (2), (3), (4) и (5) из перечня в начале этого абзаца.

Окисляющие аммиак бактерии можно использовать для лечения кожных состояний, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенические *N. eutropha* (например, штамм D23), используют для лечения индивидуума. Индивидуумы могут включать животное, млекопитающее, человека, не являющееся человеком животное, скот или животное-компаньона.

Индивидуумом может быть женщина или мужчина. Индивидуумом является индивидуум одной из следующих этнических принадлежностей/рас: азиатская, черная или афроамериканская, испанская или латиноамериканская, белая или многорасовая. Индивидуум может быть охарактеризован как имеющий по меньшей мере один из следующих типов кожи: нормальная, жирная и комбинированная кожа. Индивидуум может быть охарактеризован как имеющий один из следующих типов кожи по Фицпатрику: I, II, III, IV, V. Тип угревой сыпи индивидуума может представлять собой

один из подростковой угревой сыпи или взрослой угревой сыпи. Возраст индивидуума может составлять приблизительно 12-15, 16-18, 19-28 или более 28.

Взрослая угревая сыпь относится к индивидууму в возрасте 19 лет или старше. Подростковая угревая сыпь относится к угревой сыпи индивидуума в возрасте менее 19 лет.

В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения кожного нарушения, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, у индивидуума, включающие введение, например, нанесение, например, местное введение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата, содержащего окисляющие аммиак бактерии, на поверхность тела индивидуума.

Количество и/или частота введения, например, нанесения, могут быть достаточными для уменьшения количества или концентрации патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*, на поверхности тела индивидуума. Количество может представлять собой терапевтически эффективную дозу окисляющих аммиак бактерий.

Введение, например, нанесение, может обеспечить лечение воспалительных очагов. Воспалительные очаги могут быть в форме одного или нескольких из папул, пустул и кист/узелков.

Папулы и пустулы могут быть описаны как прыщи, вызванные раздраженными порами. Папулы представляют собой небольшие прыщи, которые появляются на коже и, как правило, имеют шершавую текстуру и являются плотными при прикосновении. Папулы могут возникать, когда стека волосяного фолликула разрушается и обрушивается. Пустулы сходны с папулами за исключением того, что желтоватый жидкий гной может заполнять их. Лейкоциты поднимаются к поверхности кожи папул с образованием пустул.

Закупоренные поры могут стать более раздраженными и крупными и могут проникать глубже в кожу с образованием узелков и кист. Кисты, как правило, образуются под поверхностью кожи и состоят из лейкоцитов, сала и в них начинает накапливаться жидкость, вызывая появления кист или заполненных гноем областей. Узелки являются твердыми и могут образовываться, когда нижняя часть фолликула разрушается, что может вызвать спадение фолликула. Это может образовывать крупную болезненную шишку на поверхности кожи, называемую узелком. Узелки могут достигать глубоких слоев кожи.

Введение, например, нанесение, может обеспечить лечение невоспалительных очагов повреждения. Невоспалительные очаги повреждения могут представлять собой комедоны, например, открытые комедоны и/или закрытые комедоны.

Закрытые комедоны, или белые угри, представляют собой небольшие закупоренные фолликулы, содержимое которых не выходит на поверхность кожи. Открытые комедоны, или черные угри, представляют собой небольшие фолликулы с расширенными отверстиями на кожу, позволяющими окисление дебриса в фолликуле, что приводит к черному цвету.

Введение, например, нанесение, может обеспечить лечение или улучшение очагов поствоспалительной гиперпигментации/поствоспалительной эритемы (PIH/PIE). Гиперпигментация характеризуется потемнением области кожи, вызванным сверхпродукцией пигмента в коже, например, меланина. Поствоспалительный относится к локализованной кожной эритеме после любого типа воспаления кожи, например, обусловленного угревой сыпью воспаления кожи, включая эритему, которая может приводить к рубцу.

Введение, например, нанесение, может обеспечить лечение или улучшение одного

или нескольких из эритемы, отека, шелушения, покалывания, жжения и зуда. Эритема может относиться к поверхностному покраснению кожи, как правило, пятнами, в результате повреждения или раздражения, вызывающего расширение кровеносных капилляров. Отек может относиться к состоянию, характеризующемуся избытком

5 водянистой жидкости, собирающейся в полостях или тканях индивидуума, например, опуханию.

Введение, например, нанесение, может обеспечить лечение или улучшение из одного или нескольких из жирного внешнего вида, внешнего вида пор, сияния, наличия пятен, равномерности цвета кожи, визуальной гладкости и тактильной гладкости.

10 Введение, например, нанесение, может обеспечить лечение или улучшение результатов измерения на Sebumeter. Кожное сало представляет собой жирный секрет сальных желез. Кожное сало может встречаться, например, на любой области организма индивидуума.

Введение может обеспечить одно или несколько из следующих: уменьшение воспаления очагов повреждения, уменьшение частоты очагов повреждения и снижение

15 присутствия патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*.

Введение может обеспечить снижение присутствия патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*. Введение может обеспечить улучшение эмоциональной оценки индивидуумом его заболевания при определении с помощью опросника для оценки качества жизни Skindex16. Введение может обеспечить улучшение одного или нескольких

20 из следующих: повреждение при кожном состоянии у индивидуума, наличие/повторное возникновение кожного состояния у индивидуума и внешние проявления кожного состояния индивидуума. Введение может обеспечить улучшение (снижение) одного или нескольких из следующих согласно клинической оценке: оценочные показатели визуальной и тактильной гладкости и наличия пятен.

25 Введение, например, нанесение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий, может включать предварительное лечение индивидуума окисляющими аммиак бактериями. Например, предварительное лечение может вовлекать введение окисляющих аммиак бактерий до угревой сыпи или обусловленного угревой сыпью обострения, например, до появления связанного с угревой сыпью симптома или

30 состояния. Введение может включать местное нанесение до возникновения кожного нарушения, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей.

Введение, например, местное нанесение, может включать местное нанесение у индивидуума эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий. Эффективная доза может представлять собой любую одну или несколько из приблизительно $0,1 \times 10^9$,

35 $0,2 \times 10^9$, $0,3 \times 10^9$, $0,4 \times 10^9$, $0,5 \times 10^9$, $0,6 \times 10^9$, $0,7 \times 10^9$, $0,8 \times 10^9$, $0,9 \times 10^9$, $1,0 \times 10^9$, $1,2 \times 10^9$, $1,4 \times 10^9$, $1,5 \times 10^9$, $1,6 \times 10^9$, $1,8 \times 10^9$, $2,0 \times 10^9$, $2,2 \times 10^9$, $2,4 \times 10^9$, $2,6 \times 10^9$, $2,8 \times 10^9$, $3,0 \times 10^9$, $3,2 \times 10^9$, $3,4 \times 10^9$, $3,6 \times 10^9$, $3,8 \times 10^9$, $4,0 \times 10^9$, $4,2 \times 10^9$, $4,4 \times 10^9$, $4,6 \times 10^9$, $4,8 \times 10^9$, $5,0 \times 10^9$,

40 $5,5 \times 10^9$, $6,0 \times 10^9$, $6,5 \times 10^9$, $7,0 \times 10^9$, $7,5 \times 10^9$, $8,0 \times 10^9$, $8,5 \times 10^9$, $9,0 \times 10^9$, $9,5 \times 10^9$, $10,0 \times 10^9$, 12×10^9 , 14×10^9 , 16×10^9 , 18×10^9 , 20×10^9 , 25×10^9 , 30×10^9 , 40×10^9 , 50×10^9 к.о.е.

Эффективная доза также может включать окисляющие аммиак бактерии, имеющие дозу, как описано в настоящем описании, в комбинации с аммиаком, например, концентрацией аммиака от приблизительно 0,01 мМ до приблизительно 100 мМ.

45 Например, концентрация аммиака может составлять приблизительно 0,01, 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6, 1,8, 2,0, 2,2, 2,4, 2,5, 2,6, 2,8, 3,0, 3,2, 3,4, 3,6, 3,8, 4,0, 4,2, 4,4, 4,5, 4,6, 4,8, 5,0, 5,2, 5,4, 5,6, 5,8, 6,0, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7,0, 7,2, 7,4, 7,6, 7,8, 8,0, 8,2, 8,4, 8,6, 8,8, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 35,0, 40,0, 45,0, 50,0, 55,0, 60,0, 65,0, 70,0, 75,0, 80,0, 85,0,

90,0, 95,0, 100,0 мМ.

Кожное нарушение, например, угревая сыпь, например, обыкновенные угри, может присутствовать в заданной области индивидуума, которая может содержать одну или несколько нежелательных бактерий, например, патогенных бактерий. Заданная область

5 может включать *Propionibacterium acnes*.

Способ лечения, кроме того, может включать определение того, нуждается ли индивидуум в лечении кожного нарушения. Это может вовлекать определение того, нуждается ли индивидуум в лечении угревой сыпи, например, обыкновенных угрей. Кроме того, способ может включать выбор индивидуума, нуждающегося в лечении

10 кожного нарушения.

В определенных вариантах осуществления способ может включать выбор индивидуума, исходя из потребности индивидуума в уменьшении количества или концентрации патогенных бактерий, например, *Propionibacterium acnes*, на поверхности

15 тела индивидуума. Введение может включать самостоятельное введение окисляющих аммиак бактерий индивидуумом. Введение может включать введение окисляющих аммиак бактерий кем-либо, кто не является данным индивидуумом. Окисляющие аммиак бактерии можно вводить, например, наносить, на любую часть тела индивидуума, например, голову, плечо, руку, ногу, предплечье, туловище, ступню, колено, лодыжку или ягодицы. В

20 некоторых аспектах окисляющие аммиак бактерии можно наносить на любое одно или несколько из лица, шеи и кожи черепа индивидуума.

В некоторых вариантах осуществления введение может включать введение, например, нанесение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий, подходящее количество раз для обеспечения эффективного лечения угревой

25 сыпи, как описано, путем улучшения любого одного или нескольких способов количественного определения, описанных в настоящем описании. Например, введение может происходить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 раза в сутки. Введение может включать введение, например, нанесение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий,

30 один раз в сутки. Введение может включать введение, например, нанесение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий, два раза в сутки.

В некоторых вариантах осуществления введение препарата может включать введение, например, нанесение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий, в течение подходящего периода времени для обеспечения

35 эффективного лечения угревой сыпи, как описано, посредством улучшения любого одного или нескольких из способов количественного определения, описанных в настоящем описании. Введение препарата может включать введение, например, нанесение, окисляющих аммиак бактерий, например, препарата окисляющих аммиак бактерий, в течение приблизительно 1-3, 3-5, 5-7, 7-9, 5-10, 10-14, 12-18, 12-21, 21-28, 28-

40 35, 35-42, 42-49, 49-56, 46-63, 63-70, 70-77, 77-84 или 84-91 суток. Препарат, например, можно наносить в течение приблизительно 7 суток. Препарат, например, можно наносить в течение приблизительно 14 суток. Препарат, например, можно наносить в течение приблизительно 21 суток. Препарат, например, можно наносить в течение приблизительно 28 суток.

Окисляющие аммиак бактерии, например, препарат окисляющих аммиак бактерий, могут быть в форме, например, среды, которая может быть способной к

45 аэрозольированию, разбрызгиванию или распылению, т.е. в форме дымки. Окисляющие аммиак бактерии, например, препарат окисляющих аммиак бактерий, можно вводить,

например, наносить, например, наносить местным путем, в качестве аэрозоля или дымки. Аэрозоль или дымка могут содержать водную среду. Препарат окисляющих аммиак бактерий может иметь форму препарата, который поддерживает или обеспечивает жизнеспособность окисляющих аммиак бактерий. Препарат может быть в буферном растворе, например, в водном буферном растворе. Буферный раствор, например, водный буферный раствор, например, водный буфер, может содержать дифосфат натрия и хлорид магния. Водный буфер может содержать 50 мМ Na₂HPO₄ и 2 мМ MgCl₂ в воде. Концентрация окисляющих аммиак бактерий может представлять собой любую концентрацию АОВ, описанную в настоящем описании. В некоторых аспектах водный буфер может содержать 50 мМ Na₂HPO₄ и 2 мМ MgCl₂ в воде и, кроме того, содержит окисляющие аммиак бактерии, например, D23 *N. eutropha*, в концентрации 1×10⁹ к.о.е./мл.

Перед добавлением окисляющих аммиак бактерий водный буферный раствор может содержать, по существу состоять или состоять из дифосфата натрия и хлорида магния, например, 50 мМ Na₂HPO₄ и 2 мМ MgCl₂ в воде.

В некоторых вариантах осуществления препарат может содержать по меньшей мере одно из аммиака, соли аммония и мочевины. Препарат может содержать материал с контролируемым высвобождением. Например, материал с контролируемым высвобождением может представлять собой материал с замедленным высвобождением. Препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать эксципиент. Эксципиент может представлять собой фармацевтически приемлемый эксципиент или приемлемый с косметической точки зрения эксципиент, как описано в настоящем описании. Эксципиент может представлять собой поверхностно-активное вещество, например, поверхностно-активное вещество, которое описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления эксципиент, например, фармацевтически приемлемый эксципиент или приемлемый с косметической точки зрения с эксципиент содержит антиадгезив, связующее вещество, покрытие, разрыхлитель, наполнитель, вкусовую добавку, краситель, смазывающее вещество, вещество, способствующее скольжению, сорбент, консервант или подсластитель.

Препарат может быть по существу свободен от других организмов. Препарат может содержать второй организм, например, организм, выбранный из группы, состоящей из *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacter* и их комбинаций.

В некоторых вариантах осуществления препарат для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, может быть помещен в или предоставлен в качестве порошка, косметического средства, крема, карандаша, аэрозоля, например, дымки, мази, салфетки или повязки. В некоторых вариантах осуществления препарат для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, может содержать увлажняющее средство, дезодорирующее средство, отдушку, краситель, репеллент, очищающее средство или УФ-блокирующее средство.

В некоторых вариантах осуществления препарат для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, может содержать окисляющие аммиак бактерии, имеющие концентрацию от приблизительно 10⁸ до приблизительно 10¹⁴ к.о.е./мл окисляющих аммиак бактерий. В некоторых аспектах препарат может содержать от приблизительно 1×10⁹ к.о.е./мл до приблизительно 10×10⁹ к.о.е./мл окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления препарат может

содержать окисляющие аммиак бактерии в количестве от приблизительно 50 миллиграммов (мг) до приблизительно 1000 мг окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления соотношение масс окисляющих аммиак бактерий и эксципиента, например, фармацевтически приемлемого эксципиента или приемлемого с косметической точки зрения эксципиента, находится в диапазоне от приблизительно 0,1 грамма до приблизительно 1 грамма на литр.

Препарат окисляющих аммиак бактерий, который можно использовать для лечения угревой сыпи, может быть предоставлен в контейнере, причем препарат и контейнер имеют массу менее чем приблизительно 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 или 2000 граммов.

Кроме того, способ может включать получение образца с поверхности кожи. Образец может быть взят в любой момент времени до введения окисляющих аммиак бактерий или в любой момент времени после введения окисляющих аммиак бактерий. Например, образец может быть взят приблизительно за 1 минуту, 5 минут, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 минут до введения или за 3 часа, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 18, 24 часов до введения или за 1 неделю, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 недель до введения. Альтернативно или дополнительно, образец может быть получен приблизительно через 1 минуту, 5 минут, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 минут после введения или через 3 часа, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 18, 24 часа после введения или через 1 неделю, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 недель после введения.

Кроме того, способ может включать выделение ДНК бактерий в образце. Бактерии могут представлять собой *Propionibacterium acnes*. Введение окисляющих аммиак бактерий обеспечивает снижение количества *Propionibacterium acnes*. Снижение количества *Propionibacterium acnes* может происходить приблизительно через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98, 105 или более суток.

Косметические продукты, например, совместимые с микробиомом косметические продукты, например, шампуни, кондиционеры и очищающие средства, как описано в настоящем описании, можно использовать совместно с лечением кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей. Эти косметические продукты можно использовать совместно с введением окисляющих аммиак бактерий. Например, косметические продукты можно использовать в течение периода введения окисляющих аммиак бактерий индивидууму. Косметические продукты можно использовать в течение некоторого периода времени до начала лечения кожного состояния посредством введения окисляющих аммиак бактерий индивидууму. Косметические продукты можно использовать в течение некоторого периода времени после начала лечения кожного состояния посредством введения окисляющих аммиак бактерий индивидууму. Косметические продукты можно использовать в течение некоторого периода времени после прекращения лечения кожного состояния посредством введения окисляющих аммиак бактерий индивидууму.

В некоторых вариантах осуществления индивидуум может применять один или несколько косметических продуктов и ждать в течение некоторого периода времени до введения окисляющих аммиак бактерий. В других вариантах осуществления индивидуум может вводить окисляющие аммиак бактерий и ждать в течение периода времени перед применением одного или нескольких косметических продуктов.

Период времени, в течение которого индивидуум может ждать, может составлять приблизительно 1 минуту, 5 минут, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 минут или 3 часа, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 18, 24 часа после нанесения одного или нескольких косметических продуктов.

и до введения окисляющих аммиак бактерий.

Период времени, в течение которого индивидуум может ждать, может составлять приблизительно 1 минуту, 5 минут, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 минут или 3 часа, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 18, 24 часа после введения окисляющих аммиак бактерий и до применения

Индивидуума можно оценивать до начала лечения, например, введения окисляющих аммиак бактерий. Индивидуума можно оценивать после начала лечения, например, после первого введения, например, нанесения, окисляющих аммиак бактерий.

Индивидуума можно оценивать за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 дня; или за 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 недели; или за 2, 3 года, 4 или 5 лет до начала лечения, например, введения окисляющих аммиак бактерий.

Индивидуума можно оценивать через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 дня; или 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 недель; или 2, 3 года, 4 или 5 лет после начала лечения, например, первого введения, например, нанесения окисляющих аммиак бактерий.

Введение может происходить за некоторый период времени до или через некоторый период времени после умывания, приема ванны или душа индивидуумом. Например, введение может происходить в момент времени, составляющий 30, 60, 90, 120, 150, 180 минут до или после того, как индивидуум умоется, примет ванну или душ.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенические *N. eutropha*, описанные в настоящем описании (например, *N. eutropha*, описанные в настоящем описании, например, штамм D23), используют для ингибирования роста других организмов. Например, *N. eutropha* D23 хорошо адаптирован для длительной колонизации кожи человека и в некоторых вариантах осуществления он вытесняет посредством конкуренции другие бактерии, которые являются нежелательными на коже. Нежелательные кожные бактерии включают, например, бактерии, которые могут инфицировать раны, повышать риск или тяжесть заболевания или вызывать запах. Определенные нежелательные кожные бактерии включают *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes* и *A. baumannii*. *N. eutropha*, описанные в настоящем описании, могут вытеснять посредством конкуренции другие организмы, например, посредством утилизации дефицитных питательных веществ или образования побочных продуктов, которые являются вредоносными для других организмов, например, изменяющих pH кожи до уровня, который не способствует росту нежелательных организмов.

Таким образом, настоящее изобретение относится, среди прочего, к способу ингибирования микробного роста на коже индивидуума, включающему местное введение человеку, нуждающемуся в этом, эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании, как описано в настоящем описании (например, штамм D23). Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксеническим *N. eutropha*, описанным в настоящем описании, для применения для ингибирования микробного роста на коже индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N.*

eutropha, описанных в настоящем описании, для изготовления лекарственного средства для ингибирования микробного роста на коже индивидуума.

Таким образом, настоящее изобретение относится, среди прочего, к способу лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, включающему местное введение человеку, нуждающемуся в этом, эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамма D23). Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксеническим *N. eutropha*, описанным в настоящем описании (например, штамм D23), для применения для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, на коже индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании, для производства лекарственного средства для лечения кожного состояния, например, угревой сыпи, например, обыкновенных угрей, на коже индивидуума.

Также настоящее изобретение относится к способу предоставления оксида азота индивидууму, включающему размещение эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23), вблизи индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксеническим *N. eutropha*, описанным в настоящем описании (например, штамм D23), для применения для предоставления оксида азота индивидууму. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23) для изготовления лекарственного средства или композиции, пригодных для размещения вблизи индивидуума.

Также настоящее изобретение относится к способу уменьшения запаха тела, включающему местное введение индивидууму, нуждающемуся в этом, эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23). Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксеническим *N. eutropha*, описанным в настоящем описании (например, штамм D23), для применения для уменьшения запаха тела индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23), для изготовления лекарственного средства или композиции для уменьшения запаха тела.

Также настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения заболевания, ассоциированного с низкими уровнями нитритов, включающему местное введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23). Аналогично, настоящее изобретение относится к местному составу окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23), для применения для лечения

заболевания, ассоциированного с низкими уровнями нитритов. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23), для производства местного лекарственного средства

для лечения заболевания, ассоциированного с низкими уровнями нитритов.

Также настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения кожного нарушения или кожной инфекции, включающему местное введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23). Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксеническим *N. eutropha*, описанным в настоящем описании (например, штамм D23), для применения для лечения кожного нарушения у индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, описанных в настоящем описании (например, штамм D23), для изготовления лекарственного средства для лечения кожного нарушения. В некоторых вариантах осуществления кожное нарушение представляет собой угревую сыпь, розацеа, экзему, псориаз или крапивницу; кожная инфекция представляет собой импетиго.

Без связи с теорией, полагают, что лечение угревой сыпи терапевтически эффективной дозой необязательно аксенических бактерий *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), может вовлекать подавление воспаления вследствие образования NO; и/или ограничение и/или ингибирование распространения и пролиферации *Propionibacterium acnes*, ассоциированных с обыкновенными угрями, посредством продукции окисленного нитрита и NO.

Например, изобретение относится к применению для лечения состояния или заболевания (например, ингибирования роста микробов на коже индивидуума), композиции окисляющих аммиак бактерий. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии можно использовать для лечения, например, хронических ран, угревой сыпи, розацеа, экземы, псориаза, крапивницы или кожных инфекций.

Системы и способы по настоящему изобретению могут быть предоставлены или могут содержать компоненты для того, чтобы быть пригодными для лечения или предупреждения кожного нарушения, лечения или предупреждения заболевания или состояния, ассоциированного с низкими уровнями нитритов, лечения или предупреждения запаха тела, лечения для предоставления оксида азота индивидууму или лечения для ингибирования микробного роста.

Системы и способы по настоящему изобретению могут обеспечить уменьшение количества нежелательных бактерий в окружающей среде, например, на поверхности тела индивидуума.

Системы и способы по настоящему изобретению могут быть предоставлены или могут содержать компоненты для того, чтобы быть пригодными для лечения по меньшей мере одного из угревой сыпи, экземы, псориаза, крапивницы, розацеа, кожных инфекций и ран, например, инфицированной раны.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии можно использовать для лечения индивидуума. Индивидуумы могут включать животное, млекопитающее, человека, не являющееся человеком животное, скот или животное-компаньон.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, описанные

в настоящем описании, используют для ингибирования роста других организмов. Например, окисляющие аммиак бактерии могут быть хорошо адаптированными к длительной колонизации кожи человека и в некоторых вариантах осуществления они вытесняют посредством конкуренции другие бактерии, которые являются

5 нежелательными на коже. Нежелательные кожные бактерии включают, например, бактерии, которые могут инфицировать раны, повышать риск или тяжесть заболевания или вызывать запахи. Нежелательные бактерии могут упоминаться как патогенные бактерии. Определенные нежелательные кожные бактерии включают *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), например, резистентные к метициллину *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas*

10 *aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*), *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*), *Propionibacteria* и *Stenotrophomonas*. Окисляющие аммиак бактерии, описанные в настоящем описании, могут вытеснять посредством конкуренции другие организмы, например, утилизируя недостаточные питательные вещества или образуя побочные продукты, которые могут быть вредоносными для других организмов, например,

15 изменяя pH кожи до уровня, который не является благоприятным для роста нежелательных организмов.

Таким образом, настоящее изобретение относится, среди прочего, к способу ингибирования микробного роста на коже индивидуума, включающему местное введение человеку, нуждающемуся в этом, эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий,

20 как описано в настоящем описании. Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, как описано в настоящем описании, для применения для ингибирования микробного роста на коже индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий для производства лекарственного средства для ингибирования микробного роста на коже индивидуума.

25 Настоящее изобретение относится, среди прочего, к способу изменения состава микробиома кожи, например, модулирования состава микробиома кожи, например, модулирования или изменения соотношений в микробиоме кожи, в окружающей среде, например, на поверхности, например, на поверхности тела индивидуума. Способ можно включать введение, например, нанесение, препарата, содержащего окисляющие аммиак

30 бактерии, в окружающую среду, например, на поверхность, например, на поверхность тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления количество и частота введения, например, применения, могут быть достаточными для уменьшения доли патогенных бактерий на поверхности кожи. В некоторых вариантах осуществления индивидуум может быть выбран, исходя из потребности индивидуума в снижении доли

35 патогенных бактерий на поверхности кожи.

Кроме того, настоящее изобретение может относиться к получению образца с поверхности кожи и выделения ДНК бактерий в образце. Также можно проводить секвенирование ДНК бактерий в образце для определения или мониторинга количества или доли бактерий в образце индивидуума.

40 Настоящее изобретение также может относиться к увеличению доли непатогенных бактерий на поверхности. В некоторых вариантах осуществления непатогенные бактерии могут представлять собой комменсальные непатогенные бактерии. В некоторых вариантах осуществления непатогенные бактерии могут представлять собой бактерии рода *Staphylococcus*. В некоторых вариантах осуществления непатогенные бактерии

45 могут представлять собой *Staphylococcus epidermidis*. В некоторых вариантах осуществления непатогенные бактерии, доля которых увеличивается, могут принадлежать роду *Staphylococcus*, составляя по меньшей мере приблизительно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%,

96%, 97%, 98%, 99 или 100% *Staphylococcus epidermidis*.

Увеличение доли непатогенных бактерий может происходить в течение заданного периода времени, например, менее чем за 1 сутки, 2 суток, 3 суток, 4 суток, 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели или 4 недели, или в течение менее чем 1-3, 3-5, 5-7, 7-9, 5-10,
5 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 суток.

Увеличение доли бактерий *Staphylococcus*, например, *Staphylococcus epidermidis*, может наблюдаться в течение менее чем приблизительно 3 недель, например, приблизительно 16 суток, например, приблизительно 2 суток.

Настоящее изобретение может относиться к уменьшению доли патогенных бактерий,
10 например, потенциально патогенных бактерий, например, ассоциированных с заболеванием бактерий на поверхности. В некоторых вариантах осуществления патогенные бактерии могут представлять собой *Propionibacteria*. В некоторых вариантах осуществления патогенные бактерии могут представлять собой *Stenotrophomonas*.

Уменьшение доли патогенных бактерий может происходить в течение заданного
15 периода времени, например, в течение менее чем 1 суток, 2 суток, 3 суток, 4 суток, 5 суток, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель, или в течение менее чем 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 суток.

Уменьшение доли бактерий *Propionibacteria* и/или *Stenotrophomonas* может наблюдаться
20 в течение менее чем приблизительно 3 недель, например, приблизительно 16 суток, например, приблизительно 2 недель.

Настоящее изобретение также относится к способу предоставления оксида азота индивидууму, включающему размещение эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, описанных в настоящем описании, вблизи индивидуума. Аналогично,
25 настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, как описано в настоящем описании, для применения для предоставления оксида азота индивидууму. Аналогично, настоящее изобретение относится к их применению для производства лекарственного средства или композиции, пригодных для размещения вблизи индивидуума.

Также настоящее изобретение относится к способу уменьшения запаха тела, включающему местное введение индивидууму, нуждающемуся в этом, эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, описанных в настоящем описании. Аналогично,
30 настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, как описано в настоящем описании, для применения для уменьшения запаха тела у индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании, для изготовления лекарственного средства или композиции для уменьшения запаха тела.
35

Настоящее изобретение также относится к способу лечения или предупреждения заболевания, ассоциированного с низкими уровнями нитритов, включающему местное
40 введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, описанных в настоящем описании. Аналогично, настоящее изобретение относится к местному составу окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании, для применения для лечения заболевания, ассоциированного с низкими уровнями нитритов. Аналогично, настоящее изобретение
45 относится к применению окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании, для изготовления местного лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с низкими уровнями нитритов.

Также настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения

кожного нарушения или кожной инфекции, включающему местное введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании. Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, как описано в настоящем описании, для применения для лечения кожного нарушения у индивидуума. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании, для изготовления лекарственного средства для лечения кожного нарушения. В некоторых вариантах осуществления кожное нарушение представляет собой угревую сыпь, розацеа, экзему, псориаз или крапивницу; кожная инфекция представляет собой импетиго.

Без связи с теорией, полагают, что лечение розацеа терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических бактерий *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), может вовлекать подавление воспаления вследствие образования NO. Это может быть результатом экспрессии ингибитора(ов) KLK5/KLK7 Kazal-типа, которые могут уменьшать образование пептида LL-37 кателицидина человека из его пропептида-предшественника hCAP18.

Без связи с теорией, полагают, что лечение экземы и/или атопического дерматита терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических бактерий *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), может вовлекать подавление воспаления вследствие образования NO; и/или ограничение и/или ингибирование распространения и пролиферации *S. aureus* и других кожных патогенов, частот ассоциированных с очень высокими показателями колонизации и нагрузкой на кожу при атопическом дерматите посредством продукции окисленных нитритов и NO.

Без связи с теорией, полагают, что лечение псориаза терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических бактерий *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), может вовлекать подавление воспаления вследствие образования NO и уменьшения образования пептида LL-37 кателицидина человека.

Без связи с теорией, полагают, что лечение псориаза терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических бактерий *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), может вовлекать подавление воспаления вследствие образования NO.

Без связи с теорией, полагают, что лечение импетиго или других инфекций кожи или мягких тканей терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических бактерий *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), может вовлекать ограничение и/или ингибирование распространения и пролиферации *S. aureus* и *S. pyogenes*.

Также настоящее изобретение относится к способу стимуляции заживления ран, включающему введение в рану эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических бактерий *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23). Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, например, необязательно аксеническим *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), для применения для лечения раны. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), для изготовления лекарственного средства

или композиции для лечения раны.

Окисляющие аммиак бактерии, например, необязательно аксенические *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), можно использовать для стимуляции заживления раны у пациента, который имеет сниженную способность к заживлению, например, у пациента с диабетом.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам использования окисляющих аммиак бактерий, например, необязательно аксенических *N. eutropha*, как описано в настоящем описании (например, штамм D23), для предупреждения заболевания или нарушения, например, кожного нарушения. В определенных вариантах осуществления предупреждение означает уменьшение риска развития у индивидуума заболевания по сравнению с индивидуумом без лечения. Риск не должен быть снижен до нуля.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения раны путем наложения повязки, содержащей *N. eutropha*, на рану. Также предусматриваются способы изготовления такой повязки. Повязка может содержать, например, адгезионную часть для фиксации повязки к поврежденной коже вблизи раны и мягкую эластичную часть для покрытия или наложения на рану. В некоторых вариантах осуществления повязка не содержит других организмов кроме *N. eutropha*. Повязка может быть изготовлена из проницаемого материала, который позволяет газам, таким как кислород и диоксид углерода, достигать *N. eutropha*, когда повязка наложена на рану. В определенных вариантах осуществления повязка содержит питательные вещества для *N. eutropha*, такие как аммоний, аммиак, мочевины или микроэлементы. В определенных вариантах осуществления повязка содержит антибиотик, к которому *N. eutropha* являются резистентными. Резистентность к антибиотику может быть следствием одного или нескольких эндогенных генов резистентности или одного или нескольких трансгенов.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят в дозе приблизительно 10^8 - 10^9 к.о.е., 10^9 - 10^{10} к.о.е., 10^{10} - 10^{11} к.о.е. или 10^{11} - 10^{12} к.о.е. на применение. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят местным путем в дозе приблизительно 10^{10} - 10^{11} к.о.е., например, приблизительно 1×10^{10} - 5×10^{10} , 1×10^{10} - 3×10^{10} или 1×10^{10} - 2×10^{10} к.о.е. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят местным путем в дозе приблизительно 2×10^9 , 4×10^9 или 8×10^9 к.о.е.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят в объеме приблизительно 1-2, 2-5, 5-10, 10-15, 12-18, 15-20, 20-25 или 25-50 мл на дозу. В некоторых вариантах осуществления раствор имеет концентрацию приблизительно 10^8 - 10^9 , 10^9 - 10^{10} или 10^{10} - 10^{11} к.о.е./мл. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят в качестве двух 15-мл доз в сутки, где каждая доза имеет концентрацию 10^9 к.о.е./мл. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят в концентрации 2×10^9 , 4×10^9 или 8×10^9 к.о.е./л. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят в концентрации 2×10^9 , 4×10^9 или 8×10^9 к.о.е./мл.

В некоторых вариантах осуществления препарат окисляющих аммиак бактерий может содержать окисляющие аммиак бактерии, имеющие дозу, как описано в

настоящем описании, в комбинации с аммиаком, например, с концентрацией аммиака от приблизительно 0,01 мМ до приблизительно 100 мМ. Например, концентрация аммиака может составлять приблизительно 0,01, 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6, 1,8, 2,0, 2,2, 2,4, 2,5, 2,6, 2,8, 3,0, 3,2, 3,4, 3,6, 3,8, 4,0, 4,2, 4,4, 4,5, 4,6, 4,8, 5,0, 5,2, 5,4, 5,6, 5,8, 6,0, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7,0, 7,2, 7,4, 7,6, 7,8, 8,0, 8,2, 8,4, 8,6, 8,8, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 35,0, 40,0, 45,0, 50,0, 55,0, 60,0, 65,0, 70,0, 75,0, 80,0, 85,0, 90,0, 95,0, 100,0 мМ.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят один раз, два раза, три раза или четыре раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят один раз, два раза, три раза, четыре, пять или шесть раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят вскоре после купания. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, вводят незадолго до сна.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к комбинированным способам терапии, включающим окисляющие аммиак бактерии, например, *N. eutropha*, и второе лекарственное средство. Например, изобретение относится к физическим смесям двух (или более) лекарственных средств. В других вариантах осуществления два (или более) терапевтических средства вводят в комбинации в качестве отдельного состава. Второй способ терапии может представлять собой, например, фармацевтическое средство, хирургическую операцию или любой другой медицинский подход, который лечит соответствующее заболевание или нарушение. В следующих абзацах описаны комбинированные способы терапии, способны лечить хронические раны, угревую сыпь, розацеа, экзему и псориаз.

В комбинированной терапии, способной лечить хронические раны, второй способ терапии может включать, например, антибиотик (например, местный или системный, и бактерицидный или бактериостатический), такой как пенициллины, цефалоспорины, полимиксины, рифамицины, липиармицины, хинолоны, сульфонамиды, макролиды, линкозамиды, тетрациклины, циклические липопептиды, глицилциклины, оксазолидиноны и липиармицины; ангиотензин, аналоги ангиотензина; очистку раны; дренаж; промывание раны; терапия раны посредством отрицательного давления; применение тепла; артериальную реваскуляризацию; гипербарическую кислородную терапию; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, глутатион, липоевая кислота, каротины, α -токоферол или убихинол; низкоуровневую лазерную терапию; перемещение места прикрепления икроножной мышцы; факторы роста, такие как сосудисто-эндотелиальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста 1-2, тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста β или эпидермальный фактор роста; применение аутологичных тромбоцитов, таких как тромбоциты, которые секретируют один или несколько факторов роста, таких как сосудисто-эндотелиальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста 1-2, тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста- β или эпидермальный фактор роста; имплантацию культивируемых кератиноцитов; аллотрансплантацию; коллаген, например, повязку, содержащую коллаген; или ингибиторы протеаз, такие как SLPI. Комбинированная терапия может включать один или несколько из вышеупомянутых способов лечения.

В комбинированной терапии, способной лечить угревую сыпь, вторая терапия может включать, например, медикаментозную терапию (например, системную или местную), такую как бензоилпероксид, антибиотики (такие как эритромицин, клиндамицин или тетрациклин), салициловая кислота, гормоны (например, включая прогестин, такой как дезогестрел, норгестимат или дроспиренон), ретиноиды, такие как третиноин,

адапален, тазаротен или изотретиноин. Вторая терапия также может представлять собой процедуру, такую как извлечение комедонов, инъекцию кортикостероидов или хирургическое вскрытие. Комбинированная терапия может включать один или несколько из вышеупомянутых способов лечения. Комбинированная терапия может включать

5 один или несколько из способов лечения, описанных в таблице 1, выше, например, лечение угревой сыпи, выбранное из группы, состоящей из местного ретиноида, азелаиновой кислоты, салициловой кислоты, местного противомикробного средства, перорального антибиотика, бензоилпероксида, перорального антиандрогена, перорального изотретиноина и их комбинаций.

10 Например, изобретение относится к физическим смесям двух (или более) терапевтических средств. В других вариантах осуществления два (или более) терапевтических средства вводят в комбинации в качестве отдельных составов. Терапевтические средства можно вводить в качестве "одновременной", или "сопутствующей", или "совместной" доставки. В других вариантах осуществления

15 доставка одного лекарственного средства оканчивается до начала доставки другого лекарственного средства. Это иногда называют в настоящем описании "поочередной" или "последовательной доставкой". Начало лекарственных средств или терапевтических средств может начинаться до или после постановки диагноза у индивидуума, имеющего кожное состояние или нарушение. Начало лечения окисляющими аммиак бактериями

20 может начинаться, когда ответ на другой способ лечения является недостаточным. Способ может включать прекращение применения другого лекарственного средства и/или прекращение применения другого способа лечения, совместно с началом введения окисляющих аммиак бактерий.

Способ терапии, например, лечение угревой сыпи, такой как способ терапии,

25 приведенный в таблице 1, выше, можно проводить в течение некоторого периода времени перед началом введения окисляющих аммиак бактерий. Способ терапии, например, лечение угревой сыпи, такой как способы лечения, приведенные в таблице 1, выше, можно продолжать в течение периода времени введения окисляющих аммиак бактерий. В определенных вариантах осуществления способ терапии, например, лечение

30 угревой сыпи, такой как способы, приведенные в таблице 1, выше, можно прекращать в ходе введения окисляющих аммиак бактерий. Способ терапии, например, лечение угревой сыпи, такой как способы, приведенные в таблице 1, выше, можно прекращать на протяжении введения окисляющих аммиак бактерий. Способ терапии, например, лечение угревой сыпи, такой как способы терапии, приведенные в таблице 1, выше,

35 можно начинать после прекращения введения окисляющих аммиак бактерий.

В комбинированной терапии, способной лечить розацеа, вторая терапия может включать, например, антибиотик, например, пероральный тетрациклиновый антибиотик, такой как тетрациклин, доксицилин или миноциклин, или местный антибиотик, такой как метронидазол; азелаиновая кислота; альфагидроксикислота; изотретиноин;

40 сандаловое масло; клонидин; бета-блокаторы, такие как надолол и пропранолол; антигистамины (такие как лоратидин); миртазапин; метилсульфонилметан или силимарин, необязательно в комбинации друг с другом; лазеры, такие как дерматологический сосудистый лазер или CO₂-лазер; или способы терапии светом, такие как интенсивный импульсный свет, низкоуровневая фототерапия или

45 фотоомоложение. Комбинированная терапия может включать один или несколько из вышеупомянутых способов лечения.

В комбинированной терапии, способной лечить экзему, второй способ терапии может включать, например, кортикостероид, такой как гидрокортизон или клобетазола

пропионат, иммунодепрессанты (местные или системные), такие как пимекролимус, такролимус, циклоспорин, азатиоприн или метотрексат или фототерапию, такую как ультрафиолетовое излучение. Комбинированная терапия может включать один или несколько из вышеупомянутых способов лечения.

- 5 В комбинированной терапии, способной лечить псориаз, вторая терапия может включать, например, кортикостероид, такой как дезоксиметазон; ретиноид; деготь; витамин D или его аналог, такой как парикальцитол или кальцитриол; увлажнители и смягчающие средства, такие как минеральное масло, вазелин, кальцитриол, декубал или кокосовое масло; дитранол или флуоционид. Комбинированная терапия может
10 включать один или несколько из вышеупомянутых способов лечения.

Без связи с теорией, полагают, что лечение псориаза терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, описанных в настоящем описании, может вовлекать подавление воспаления вследствие образования NO и уменьшения образования пептида LL-37 кателицидина человека.

- 15 Без связи с теорией, полагают, что лечение псориаза терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании, может вовлекать подавление воспаления вследствие образования NO.

- Без связи с теорией, полагают, что лечение импетиго или других инфекций кожи и мягких тканей терапевтически эффективной дозой окисляющих аммиак бактерий, как
20 описано в настоящем описании, может вовлекать ограничение и/или ингибирование распространения и пролиферации *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), например, резистентных метициллину *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*), *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*), *Propionibacteria* и *Stenotrophomonas*.

- 25 Также настоящее изобретение относится к способу стимуляции заживления раны, включающему введение в рану эффективной дозы окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании. Аналогично, настоящее изобретение относится к окисляющим аммиак бактериям, как описано в настоящем описании, для применения для лечения раны. Аналогично, настоящее изобретение относится к применению
30 окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании, для изготовления лекарственного средства или композиции для лечения раны.

- В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам применения окисляющих аммиак бактерий, как описано в настоящем описании, для предупреждения заболевания или нарушения, например, кожного нарушения. В
35 определенных вариантах осуществления предупреждение означает уменьшение развития у индивидуума заболевания по сравнению со сходным индивидуумом без лечения. Риск не должен снижаться до нуля.

- Индивидуумы, имеющие более низкую частоту купания, такую как астронавты, члены команды подводной лодки, военнослужащие на службе, гражданские лица в
40 отдаленном местонахождении, беженцы, прикованные к постели индивидуумы и многие другие, могут сохранять более здоровую кожу путем поддержания окисляющих аммиак бактерий на коже. Что касается прикованных к постели индивидуумов, в некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии уменьшают частоту или тяжесть пролежней вследствие усиления недостаточного кровотока.

- 45 Полагают, что многие современные дегенеративные заболевания могут быть вызваны отсутствием форм NO и что окисляющие аммиак бактерии на наружной поверхности кожи могут обеспечивать эти формы посредством диффузии, и что нанесение окисляющих аммиак бактерий на кожу может разрешать длительные медицинские

состояния. В определенных вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии наносят на тело индивидуума для замещения современной практики купания, особенно с анионными детергентами, которые удаляют окисляющие аммиак бактерии с наружной поверхности кожи.

5 Одним подходящим способом местного применения является нанесение достаточного количества окисляющих аммиак бактерий, а затем ношение достаточного количества одежды для индукции потоотделения. Однако многие люди хотели бы получать пользу окисляющих аммиак бактерий, сохраняя их текущие привычки купания, и в этом случае культуру бактерий можно наносить совместно с достаточным для них количеством
10 субстрата для продукции NO. Для этой цели можно использовать раствор питательных веществ, сходный с неорганической композицией пота человека. Использование бактерий, адаптированных среде, сходной с потом человека, минимизирует время их адаптации при нанесении. Поскольку пот испаряется после экскреции на поверхность кожи является желательным использование культуральной среды, которая имеет более
15 высокую ионную силу. Пригодной является концентрация, приблизительно в два раза превышающая концентрацию в поте человека, однако также предусматриваются другие условия. Пищевые потребности окисляющих бактерий, как правило, удовлетворяются посредством NH_3 или мочевины, O_2 , CO_2 и минералов. В некоторых вариантах осуществления субстрат включает микроэлементы, включая железо, медь, цинк, кобальт,
20 молибден, марганец, натрий, калий, кальций, магний, хлорид, фосфат, сульфат или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения раны посредством наложения повязки, содержащей окисляющие аммиак бактерии, на рану. Также предусматриваются способы изготовления такой повязки.
25 Повязка может содержать, например, адгезионную часть для прикрепления повязки к неповрежденной коже вблизи раны и мягкую эластичную часть для покрытия или наложения на рану. В некоторых вариантах осуществления повязка не содержит других организмов кроме окисляющих аммиак бактерий. Повязка может быть изготовлена из проницаемого материала, который позволяет газам, таким как кислород и диоксид
30 углерода, достигнуть окисляющих аммиак бактерий, когда повязку накладывают на рану. В определенных вариантах осуществления повязка содержит питательные вещества для окисляющих аммиак бактерий, такие как аммоний, аммиак, мочевина или микроэлементы. В определенных вариантах осуществления повязка содержит антибиотик, к которому окисляющие аммиак бактерии являются резистентными.
35 Резистентность к антибиотикам может быть следствием одного или нескольких эндогенных генов резистентности или одного или нескольких трансгенов.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии, например, препарат окисляющих аммиак бактерий, вводят в дозе приблизительно 10^8 - 10^9 к.о.е.,
40 10^9 - 10^{10} к.о.е., 10^{10} - 10^{11} к.о.е. или 10^{11} - 10^{12} к.о.е. на применение или в сутки. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят местным путем в дозе приблизительно 10^9 - 10^{10} к.о.е., например, приблизительно 1×10^9 - 5×10^9 , 1×10^9 - 3×10^9 или 1×10^9 - 10×10^9 к.о.е.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят в
45 объеме приблизительно 1-2, 2-5, 5-10, 10-15, 12-18, 15-20, 20-25 или 25-50 мл на дозу. В некоторых вариантах осуществления раствор имеет концентрацию приблизительно 10^8 - 10^9 , 10^9 - 10^{10} или 10^{10} - 10^{11} к.о.е./мл. В некоторых вариантах осуществления

окисляющие аммиак бактерии вводят в качестве двух 15-мл доз в сутки, где каждая доза имеет концентрацию 10^9 к.о.е./мл.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят один, два, три или четыре раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят один, два, три, четыре, пять или шесть раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят сразу после купания. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят незадолго до сна.

В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят в течение приблизительно 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 суток, например, в течение приблизительно 1 месяца, в течение приблизительно 2 месяцев, в течение приблизительно 3 месяца. В некоторых вариантах осуществления окисляющие аммиак бактерии вводят в течение неопределенного периода времени, например, в течение более чем одного года, более 5 лет, более 10 лет, более 15 лет, более 30 лет, более 50 лет, более 75 лет.

5. Использование совместимых с микробиомом косметических средств, например, очищающего средства, шампуня и/или кондиционера, с введением окисляющих аммиак бактерий

Системы и способы по изобретению относятся, среди прочего, к косметическим продуктам, например, готовым косметическим продуктам, которые можно считать "благоприятными для биомы" или "совместимыми с биомом". Системы и способы по изобретению могут предусматривать применение косметических продуктов, например, готовых косметических продуктов, которые можно использовать в комбинации с бактериями, например, непатогенными бактериями, например, окисляющими аммиак бактериями, которые можно использовать в форме препарата или композиции для применения у индивидуума. В таблице 4 предоставлен перечень компонентов, один или несколько из которых могут быть предоставлены в препарате или композиции и которые могут обеспечить благоприятный для биомы или совместимый с биомом продукт.

Таблица 4. Потенциальные компоненты благоприятного для биомы продукта.

Компонент	Категория
Децилглюкозид	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Кокамидопропилбетаин (ColaTeric COAB)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Сложный эфир полиэтилена и сорбита (например, Tween 80)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Этоксилированный лауриловый спирт (RhodaSurf 6 NAT)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Натрий лаурет сульфат/лаурилглюкозид/ кокамидопропилбетаин (Plantapon 611 L UP)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Натрий лаурет сульфат (например, RhodaPex ESB 70 NAT)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Алкилполиглюкозид (например, Plantaren 2000 N UP)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Натрий лаурет сульфат (Plantaren 200)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Мыло Dr. Bronner Castile	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Детское мыло Dr. Bronner	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Лаурамина оксид (ColaLux Lo)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Додецилсульфат натрия (SDS)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Полисульфонат алкилполиглюкозид (PolySufanate 160 P)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Лаурилсульфат натрия (Stepanol-WA Extra K)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Натрий лаурилглюкозид гидроксипропилсульфонат (Suga@nate 160NC)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство (из биологического сырья)
Лаурамидопропилбетаин (Cola@Teric LMB)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Кокамидопропилгидроксисулфат (Cola@Teric CBS)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
Динатрий кокоамфодиацетат (Cola@Teric CDCX-LV)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство

5	Натрий лаурилглюкозид гидроксипропилфосфат (Suga@Fax D12).	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
	Натрий лауроилметилизетионат (Iselux® LQ-CLR-SB)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
	Натрий метилкокоилтаурат (Pureact WS Conc.)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
	Вода (и) натрий лауроилметилизетионат (и) кокамидопропилбетаин (и) натрий кокоилизетионат (и) натрий метилолеилтаурат (Iselux®SFS-SB)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство
	Кокоглюкозид (Plantacare 818)	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство (из биологического сырья)
10	Натрий кокоилглицинат	Поверхностно-активное вещество/очищающее средство (из биологического сырья)
	Каприловый/каприновый триглицерид (Myritol)	Кондиционер
	Катионный гуар (N-Hance)	Кондиционер/средство, облегчающее расчесывание
	Кокосовое масло	Кондиционер
	Яблочные сахара, например, экстракт плода <i>pyrus malus</i> (яблоко), например, экстракт плода <i>pyrus malus</i> (яблоко) и глицерин (Botanimoist AMS);	Увлажнитель
15	Гидролизованная квиноа	Увлажняющее, связующее средство
	Гидролизированный белок семян <i>adansonia digitata</i> (биоаб)	Смягчающее средство
	Гидроксиэтилцеллюлоза (Natrosol)	Модификатор вязкости
	Гидроксипропилцеллюлоза (Klucel MCS)	Модификатор вязкости/пленкообразующее средство
	Гидролизированный соевый белок (Soy Tein NPNF)	
20	Натуральный гидрозолю розы	Отдушка
	Натуральная розовая вода	Отдушка
	Вода из цветков Damascena	Отдушка
	Кокоглюкозид и глицерилолеат (Lamisoft® PO 65)	Усилитель липидного слоя
	Полисорбат 80	Эмульгатор
	Лимонная кислота	Стабилизатор pH

Косметические продукты, которые можно использовать в рамках настоящего изобретения, могут представлять собой, или включать, или помещены в любой один или нескольких из из детских продуктов, например, детский шампунь, детский лосьон, детское масло, детский порошок, детский крем; средства для ванн, например, масло для ванн, таблетку, соль, пену для ванн, капсулу для ванн; средства для макияжа глаз, например, карандаш для бровей, карандаш для подведения глаз, тень для глаз, лосьон для глаз, средство для удаления макияжа с глаз, тушь; парфюмерного изделия, например, одеколон, туалетную воду, духи, порошок (пудра и тальк), саше; средства для волос, например, кондиционеры для волос, спреи для волос, средства для выпрямления волос, средства для химической завивки, ополаскиватели, шампуни, тоники, обертки, добавки для ухода за волосами, наборы для завивки; средства для окрашивания волос, например, краски и красители для волос, оттеночные средства для волос, оттеночные ополаскиватели, оттеночные шампуни, осветлители волос с красителем, отбеливатели для волос; средств для макияжа, например, пудру, тональный крем, краски для ног и тела, губную помаду, основы для макияжа, румяна, фиксаторы макияжа; средств для маникюра, например, базовый слой и подслой, смягчители кутикулы, кремы и лосьоны для ногтей, средства для удлинения ногтей, лак и эмаль для ногтей, средства для удаления лака и эмали для ногтей; продуктов для гигиены полости рта, например, средства для чистки зубов, средства для полоскания полости рта и освежители дыхания; мыла для ванн и детергентов, дезодорантов, средств для спринцевания, женских гигиенических дезодорантов; средств для бритья, например, лосьоны после бритья, смягчители для бороды, тальк, лосьоны до бритья, крем для бритья, мыло для бритья; средств для ухода за кожей, например, очищающие средства, средства для депиляции, порошки и спреи для лица и шеи, тела и рук, стоп, увлажняющие средства, ночные средства, густые маски, освежители кожи; и средств для загара, например, гели, кремы и жидкости и средства для искусственного загара.

Косметические продукты могут содержать любой один или несколько из ингредиентов, описанных в настоящем описании, например, ингредиенты, описанные в таблице 4.

Косметический продукт или готовый косметический продукт может содержать, по существу состоять или состоять из следующей композиции(ий), как показано в таблице 5, ниже:

Таблица 5.

Компонент	Предпочтительная концентрация	Предпочтительный диапазон концентраций	Описание
Klucel MCS (Гидроксипропил-целлюлоза)	1,5%	1,0-2,0%	Модификатор вязкости
Кокаמידопропил-бетаин	20,0%	15,0%-30,0%	Очищающее средство/поверхностно-активное вещество
Децилглюкозид	7,5%	0,0-10,0%	Очищающее средство/поверхностно-активное вещество
Botanimoist AMG (глицерин+яблочный экстракт)	3,0%	0,0-4,0%	Увлажняющее средство
Гидролизированный белок баобаба	2,0%	0,0-4,0%	Кондиционер для кожи
Натуральный гидрозоль розы	10,0%	0,0-15,0%	Отдушка

Этот продукт можно использовать в качестве косметического продукта, например, в качестве шампуня, например, геля для душа. Продукт включает воду до 100%. В некоторых вариантах осуществления косметический продукт, например, шампунь, может содержать или может не содержать лимонную кислоту, и лимонная кислота может требоваться в случаях, когда требуется или является желательной стабилизация pH.

Косметический продукт или готовый косметический продукт может содержать, по существу состоять или состоять из следующей композиции(ий), как показано в таблице 6, ниже:

Таблица 6

Компонент	Предпочтительная концентрация	Предпочтительный диапазон концентраций	Описание
Klucel MCS (Гидроксипропил-целлюлоза)	0,25%	0,10-0,50%	Модификатор вязкости
Кокаמידопропил-бетаин	8,00%	5,0-12,0%	Очищающее средство/поверхностно-активное вещество
Децилглюкозид	4,0%	0,0-6,0%	Очищающее средство/поверхностно-активное вещество
Botanimoist AMG (глицерин+яблочный экстракт)	2,0%	0,0%-4,0%	Увлажнитель
Кондиционер на основе гидролизованного белка квиноа	1,0%	0,0-3,0%	Кондиционер для кожи
Натуральный гидрозоль розы	7,5%	0,0%-10,0%	Отдушка
Лимонная кислота	Добавляется при необходимости, обычно в очень малых количествах, для стабилизации pH	При необходимости в очень малых количествах для стабилизации pH	Стабилизатор pH

Этот продукт можно использовать в качестве косметического продукта, например, в качестве очищающего средства, например, для тела, рук или лица. Продукт включает воду до 100%. В некоторых вариантах осуществления косметический продукт, например, очищающее средство, может содержать или может не содержать лимонную кислоту, и лимонная кислота может требоваться в случаях, когда требуется или является желательной стабилизация pH.

Можно использовать другой гидролизированный белок, и он может включать, но не

ограничиваться ими, белок риса, сои, баобаба и овса. Могут предусматриваться другие альтернативы отдушек.

Готовый косметический продукт может иметь одно или несколько, или все свойства, описанные в настоящем описании.

- 5 Предусматриваются другие продукты, включая кондиционеры для волос и/или кожи, которые могут содержать, по существу состоять или состоять из следующих, как показано в таблице 7 ниже:

Таблица 7.

10	Компонент	Предпочтительная концентрация	Предпочтительный диапазон концентраций	Описание
	Гидроксипропил-целлюлоза (Klucel MCS)	1,5%	0,50-2,50%	Модификатор вязкости/ пленко-образующее средство
	Катионный гуар (N-Hance)	0,5%	0,10-1,5%	Кондиционер и средство, облегчающее расчесывание
15	Кокосовое масло	1,0%	0,0-3,0%	Кондиционер
	Отдушка	По желанию	По желанию	

- Продукт включает воду до 100%. В некоторых вариантах осуществления косметический продукт, например, кондиционер, может содержать или может не содержать лимонную кислоту и может быть необходим, когда требуется или является желательной стабилизация pH.

6. Механизм терапевтической пользы

- Без связи с теорией, полагают, что один или несколько из следующих механизмов вносят вклад в полезный эффект окисляющих аммиак бактерий, например, *N. eutropha*, при лечении заболеваний или состояний, описанных в настоящем описании.
- 25 Дополнительные детали механизма могут быть найдены в международной заявке WO/2005/030147, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

- Для понимания полезных аспектов этих бактерий полезно понять ангиогенез. Все клетки организма, за исключением клеток, находящихся в пределах нескольких сот
- 30 микрометров от наружного воздуха, получают весь метаболический кислород из кровотока. Кислород поглощается кровью в легких, переносится эритроцитами в качестве оксигенированного гемоглобина в периферические ткани, где он обменивается на диоксид углерода, который переносится обратно и выдыхается из легкого. Кислород может диффундировать из эритроцита через плазму, через эндотелий и через различные
- 35 ткани до тех пор, пока не достигнет митохондрий в клетке, которые утилизируют его. Организм человека содержит приблизительно 5 литров крови, так что объем кровеносной системы является малым по сравнению с объемом тела. Кислород транспортируется не активно. Он пассивно диффундирует по градиенту концентрации из воздуха в эритроцит, от эритроцита к клетке и от клетки к цитохромоксидазе, где он
- 40 утилизируется. Концентрация кислорода в области утилизации является наиболее низкой в организме, и поток O₂ определяется сопротивлением диффузии и градиентом концентрации. Достижение достаточного снабжения кислородом всех периферических тканей требует тонкого контроля размера и положения капилляров. Если бы пространство между капиллярами было увеличено, достижение того же потока
- 45 кислорода потребовало большей разности концентраций и, таким образом, более низкой концентрации O₂ у цитохромоксидазы. Чем больше клеток между капиллярами, тем больше потребность в O₂. Если бы расстояние между капиллярами уменьшилось, тогда было бы меньше доступного пространства для клеток, которые выполняют

метаболическую функцию органа.

В некоторых аспектах понятно, что NO из окисляющих аммиак бактерий без труда поглощается наружным слоем кожи и конвертируется в S-нитрозотиолы, поскольку, наружный слой кожи свободен от гемоглобина. M. Stucker et al. показали, что наружный слой кожи получает весь кислород из внешнего воздуха в статье "The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis. (Journal of Physiology (2002), 538,3, pp. 985-994.). Это является очевидным, поскольку, как можно видеть, наружный слой кожи по существу свободен от эритроцитов. Через этих слои существует циркуляция плазмы, поскольку они являются живыми и требуют других питательных веществ, присутствующих в крови, но не кислорода. Образующиеся S-нитрозотиолы являются стабильными, могут диффундировать по организму и представляют собой объемный источник аутентичного NO и источник NO для транснаитрозирования тиолов белка.

В некоторых аспектах понятно, что разрежение капилляров может быть одним из первых признаков недостаточных уровней NO. F. T. Tarek et al. показали, что скудные капилляры или разрежение капилляров часто наблюдают у людей с эссенциальной гипертензией (Structural Skin Capillary Rarefaction in Essential Hypertension. Hypertension. 1999;33:998-1001).

Довольно много состояний ассоциировано с тем, что плотность капилляров становится разреженной. Гипертензия является одним из них, и исследователи сообщили, что разреженные капилляры также наблюдают у детей людей с эссенциальной гипертензией, а также людей с диабетом. Значительными осложнениями диабета являются гипертензия, диабетическая нефропатия, диабетическая ретинопатия и диабетическая невропатия. R. Candido et al. обнаружили, что последние два состояния характеризуются снижением кровотока в пораженные области перед проявлением симптомов. (Haemodynamics in microvascular complications in type 1 diabetes. Diabetes Metab Res Rev 2002; 18: 286-304). Сниженная плотность капилляров ассоциирована с ожирением и простое снижение массы тела увеличивает плотность капилляров, как показано A Philip et al. in "Effect of Weight Loss on Muscle Fiber Type, Fiber Size, Capilarity, and Succinate Dehydrogenase Activity in Humans. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism Vol. 84, No. 11 4185-4190, 1999.

Исследователи показали, что при первичном феномене Рейно (PRP) капилляры ногтевого ложа являются более скудными (немного), чем у здоровых контролей, и более обильными, чем у пациентов, у которых произошло прогрессирование в системную склеродермию (SSc). M. Bukhari, Increased Nailfold Capillary Dimensions In Primary Raynaud's Phenomenon And Systemic Sclerosis. British Journal of Rheumatology, Vol. 24 No 35: 1127-1131, 1996. Они обнаружили, что плотность капилляров снижалась от 35 петель/мм² (здоровые контроли) до 33 (PRP), до 17 (SSc). Среднее расстояние между капиллярами в конечностях составляло 18 мкм, 18 мкм и 30 мкм для контролей, PRP и SSc, соответственно.

В некоторых аспектах понятно, что механизм, который организм обычно использует для восприятия "гипоксии", может поражать систему организма, которая регулирует плотность капилляров. Согласно этому аспекту изобретения, значительный компонент "гипоксии" воспринимается не посредством уменьшения уровней O₂, а увеличения уровней NO. Снижение базовых уровней NO препятствует этому восприятию "гипоксии", и, таким образом, влияет на множество функций организма, регулируемых через "гипоксию". Например, анемию обычно определяют как "недостаточно гемоглобина" и одним из следствий недостаточного гемоглобина является "гипоксия", которая

определяется как "недостаточно кислорода". Согласно некоторым аспектам, эти общие определения не учитывают опосредуемых оксидом азота аспектов обоих состояний.

В состоянии покоя острая изоволюмическая анемия хорошо переносится. Снижение гематокрита на 2/3 имеет минимальный эффект на венозный возврат PvO₂, что указывает на отсутствие снижения как напряжения O₂, так и доставки по всему организму. Weiskopf et al. Human cardiovascular and metabolic response to acute, severe isovolemic anemia. JAMA 1998, vol 279, No. 3, 217-221. При 50% снижении (от 140 до 70 г Hb/л), среднее значение PvO₂ (для 32 индивидуумов) снижалось от приблизительно 77% до приблизительно 74% (насыщения). Снижение емкости крови для O₂ компенсируется расширением сосудов и тахикардией с увеличением частоты сердцебиений от 63 до 85 ударов в минуту. То, что компенсация является эффективной, очевидно, однако механизм таковым не является. Типичное объяснение состоит в том, что сенсоры "гипоксии" обнаруживают "гипоксию" и компенсируют расширением сосудов и тахикардией. Однако отсутствовала "гипоксия", для того чтобы ее обнаружить. Происходило небольшое уменьшение уровня лактата в крови (маркер анаэробного дыхания) от 0,77 до 0,62 мМ/л, что указывает на меньшее анаэробное дыхание и меньшую "гипоксию". Снижение венозного возврата PvO₂ на 3% является тем же уровнем "гипоксии", который можно получить путем подъема на высоту 300 метров (который, как правило, не вызывает тахикардию). Пока концентрация O₂ в венозном возврате остается неизменной и утилизация O₂ остается неизменной, в организме нет места, где происходит уменьшение концентрации O₂. Компенсация в ходе изоволюмической анемии может не происходить вследствие восприятия O₂.

Таким образом, расширение сосудов, которое наблюдают при острой изоволюмической анемии, может быть следствием увеличенной концентрации NO в стенке сосудов. NO опосредует расширение сосудов в ответ на сдвиговое усилие и другие факторы. Не наблюдают изменений уровней метаболитов NO, поскольку скорость продукции NO не изменяется и продолжает быть равной скорости распада. Наблюдение отсутствия "гипоксической" компенсации при замене на metHb может быть понятно, поскольку metHb связывает NO также, как и Hb, таким образом, не происходит увеличения концентрации NO при замене на metHb, также как и при устранении Hb.

Оксид азота играет роль во многих метаболических каскадах. Было предположено, что базовый уровень NO обеспечивает ингибиторный ответ тонуса и что снижение этого базального уровня приводит к торможению ингибирования этих каскадов. Zanzinger et al. сообщили, что было показано, что NO ингибирует базовый симпатический тонус и ослабляет рефлекс возбуждения. (Inhibition of basal and reflex-mediated sympathetic activity in the RVLM by nitrogen oxide. Am. J. Physiol. 268 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 37): R958-R962, 1995.)

В некоторых аспектах понятно, что одним из компонентов объемного источника NO является низкомолекулярные S-нитрозотиолы, продуцируемые в свободной от эритроцитов коже из NO, продуцируемого окисляющими аммиак бактериями наружного слоя кожи. Эти низкомолекулярные S-нитрозотиолы являются стабильными в течение длительных периодов времени и могут диффундировать и свободно циркулировать в плазме. Различные ферменты могут отщеплять NO от различных S-нитрозотиолов, высвобождая NO в области нахождения фермента. Потеря именно этого объемного источника NO от АОВ на коже приводит к нарушению нормальной физиологии. Преимущество использования организмом S-нитрозотиолов для образования NO вдали от капилляров состоит в том, что для продукции NO из S-нитрозотиолов O₂ не требуется.

Продукция NO синтазой оксида азота (NOS) требует O₂. При достаточном фоновом уровне S-нитрозотиолов NO может образовываться даже в аноксических областях. Свободный NO также не требуется, поскольку NO не только проявляет эффекты, когда связан с другой молекулой, такой как тиол остатка цистеина или железо гема, так, эффекты NO могут опосредоваться реакциями транснаитрозирования даже в отсутствие свободного NO при условии, что присутствуют S-нитрозотиолы и ферменты транснаитрозирования.

Frank et al. показали, что ангиогенез, который сопровождает нормальное заживление ран, вызывается частично повышенными уровнями VEGF, который индуцируется повышенным содержанием оксида азота. (Nitric oxide triggers enhanced induction of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes (HaCaT) and during cutaneous wound repair. FASEB J. 13, 2002-2014 (1999)).

NO играет роль в развитии злокачественной опухоли, что указывает на то, что бактерии, описанные в настоящем описании, можно использовать в способах лечения и предупреждения злокачественной опухоли. Согласно определенным аспектам, понятно, что присутствие NO в ходе гипоксии может препятствовать делению клеток в условиях гипоксического стресса, когда клетки имеют более высокий риск ошибок при копировании ДНК. Одной актуальной клеточной функцией является регуляция клеточного цикла. Она представляет собой регуляторную программу, которая контролирует, как и когда клетки реплицируют ДНК, собирают ее в дублированные хромосомы и делятся. Регуляция клеточного цикла является чрезвычайно сложной и не полностью понятной. Однако известно, что существует множество точек на пути клеточного цикла, где цикл может быть остановлен и деление прекращено до тех пор, пока условия для этого не улучшатся. Белок опухолевой супрессии p53 является ключевым белком в регуляции клеточного цикла, и он служит для инициации как остановки клеточного цикла, так и апоптоза, в результате разнообразных сигналов клеточного стресса, включая повреждение ДНК, и p53 является мутантным более чем в половине злокачественных опухолей человека, согласно сообщению Ashcroft et al., "Stress Signals Utilize Multiple Pathways To Stabilize p53". (Molecular And Cellular Biology, May 2000, p. 3224-3233). Гипоксия инициирует накопление p53, и, хотя гипоксия является важной в регуляции клеточного цикла, гипоксия отдельно не индуцирует нижеследующую экспрессию эффекторных белков для мРНК p53 и, таким образом, не вызывает остановку клеточного цикла. Goda et al. сообщили, что гипоксическая индукция остановки клеточного цикла требует индуцирующего гипоксию фактора 1 (HIF-1 α). (Hypoxia-Inducible Factor 1 α Is Essential for Cell Cycle Arrest during Hypoxia. Molecular And Cellular Biology, Jan. 2003, p. 359-369.) Britta et al. сообщили, что NO является одним из основных стимулов для HIF-1 α . (Accumulation of HIF-1 α under the influence of nitrogen oxide. Blood, 15 February 2001, Volume 97, Number 4). Напротив, NO вызывает накопление активного в отношении транскрипции p53 и вызывает остановку клеточного цикла и вызывает апоптоз. Wang et al., P53 Activation By Nitric Oxide Involves Down-Regulation Of Mdm2. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol. 277, No. 18, Issue Of May 3, Pp. 15697-15702, 2002.

В определенных аспектах изобретения понятно, что предупреждение некротической гибели клетки посредством предупреждения разрежения капилляров, которое приводит к их гипоксической гибели, может препятствовать аутоиммунным нарушениям. Когда клетки подвергаются хронической гипоксии, продукция активных форм кислорода (ROS) возрастает и происходит увеличенное повреждение метаболического аппарата клеток и в конечном итоге ДНК клеток. Сниженная метаболическая способность

приводит к снижению способности к репарации повреждения вследствие ROS и вследствие экзогенного воздействия канцерогенов. С течением времени повреждения накапливаются и увеличивают вероятность трех событий: клетка подвергнется делеции препятствующих злокачественной опухоли генов и клетка станет злокачественной, клетка погибнет вследствие некроза или клетка погибнет посредством апоптоза. Когда клетки погибают посредством либо некроза, либо апоптоза, клеточный дебрис должен выводиться из этой области. Погибшие клетки фагоцитируются иммунными клетками, включающими дендритные клетки и макрофаги. Когда эти клетки фагоцитируют тело, оно расщепляется различными протеолитическими ферментами на антигенные фрагменты, а затем эти антигены связываются с главным комплексом гистосовместимости (МНС1, МНС2), и комплекс антиген-МНС перемещается к поверхности клетки, где он может взаимодействовать с Т-клетками и активировать Т-клетки различными путями. Любое повреждение клеток высвобождает адьюванты, которые стимулируют иммунную систему различными путями. Как правило, клетки, которые претерпевают некроз, стимулируют больший иммунный ответ, чем клетки, которые претерпевают апоптоз. Таким образом, длительное воздействие на иммунные клетки погибших или погибающих клеток, вероятно, приведен к аутоиммунным нарушениям.

В некоторых аспектах понятно, что низкий базовый уровень NO приводит к фиброзной гипертрофии. После выведения погибших клеток новая клетка не может легко занять ее место, поскольку недостаточно O_2 для ее поддержания. Любая такая новая клетка будет иметь ту же судьбу. Пространство может оставаться пустым, и в этом случае орган сморщивается, капилляры сближаются, новые клетки теперь лишаются VEGF, ранее продуцируемого теперь отсутствующими клетками, таким образом, капилляры разрушаются и вновь образуется гипоксическая зона. Это может приводить к общему сокращению пораженных тканей. В тканях, которые поддерживают фиброз, относительно инертные коллагеновые волокна могут заполнять пространство. Поскольку метаболические потребности организма для конкретного рассматриваемого органа не снижаются, орган может попытаться стать больше, однако теперь с помощью значительного фиброзного содержимого. Это может привести к фиброзной гипертрофии, например, сердца и печени. Некоторые органы, такие как головной мозг, не могут расти больше или становиться меньше, поскольку трехмерная взаимосвязь нервов и кровеносных сосудов является важной, и они не могут быть непрерывно и одновременно отображаться на асимметрично сморщивающемся головном мозге. Пространство должно заполняться чем-либо, и заполнителем пространства может быть β -амилоид (не совсем инертный). Почка не может увеличиваться вследствие почечной капсулы, так что ряд живых клеток становятся меньшими, и они вытесняются фиброзной тканью. Если погибшие клетки выводятся, ткань сморщивается и соотношение NO/O_2 вновь снижается, и капилляры вновь становятся разреженными. Это может привести к порочному кругу в виде конечной стадии почечной недостаточности, застойной сердечной недостаточности/гипертрофии сердца, первичного билиарного цирроза, болезни Альцгеймера, атеросклероза, воспалительного заболевания кишечника, формирования гипертрофических рубцов и множественных заболеваний соединительной ткани, начиная с феноменом Рейно и заканчивая системной склеродермией и первичным синдромом Шегрена, где также наблюдается разрежение капилляров. Ferrini et al. показали, что снижение базовых уровней NO путем длительного ингибирования NOS посредством L-NAME приводит к генерализованному фиброзу сердца и почек. (Antifibrotic Role of Inducible Nitrogen Oxide Synthase. Nitric Oxide: Biology and Chemistry

Vol. 6, No. 3, pp. 283-294 (2002).) Возможно, низкий базальный уровень NO приводит к фиброзной гипертрофии.

В некоторых аспектах понятно, что разрежение капилляров влияет на способность индивидуумов контролировать их аппетит. Разрежение капилляров наблюдают в головном мозге пожилых людей и животных. Разрежение капилляров ассоциировано со снижением уровней циркулирующих факторов роста, включая инсулиноподобный фактор роста-1. Нейрогенез во взрослом головном мозге скоординирован с ангиогенезом. Поскольку головной мозг регулирует множество гомеостатических функций, увеличенная длительность диффузии между капиллярами для контроля элементов головного мозга может быть "интерпретирована" как недостаточные концентрации этих факторов в крови. Поток глюкозы в головном мозге достаточно близок к нормальным метаболическим потребностям, где поток глюкозы только на 50-75% превышает утилизацию глюкозы и переносчики глюкозы через гематоэнцефалический барьер являются насыщаемыми, стереоспецифическими и независимыми от энергии или градиентов ионов. Значительная часть регуляции аппетита опосредуется через головной мозг и разрежение капилляров может обеспечить достаточную концентрацию в крови "питательных веществ" (или маркерных соединений, пропорциональных "питательным веществам"), чтобы быть интерпретированной как недостаточная. Это может быть одной из причин ожирения.

Согласно определенным аспектам, понятно, что разрежение капилляров может быть причиной неинсулинзависимого диабета. Неинсулинзависимый диабет (NIDDM) также известен как метаболический синдром или диабет 2 типа, и он характеризуется резистентностью к инсулину. Чувствительность организма к инсулину снижается и уровни инсулина возрастают. Люди с NIDDM имеют высокий уровень глюкозы в крови, высокий уровень триглицеридов в крови и обычно имеют ожирение, гипертензию и, как правило, значительное количество висцерального жира.

NIDDM сопровождается другими симптомами, которые могут указывать на разрежение капилляров в качестве причины. В исследовании 40 мужчин с NIDDM и без него, с ожирением (BMI 29) и худых (BMI 24) (по 10 в каждой группе), Konrad et al. сообщили, что уровни лактатов в крови в состоянии покоя составляли 1,78, 2,26, 2,42 и 2,76 (мМ/л) для худых мужчин без, тучных мужчин без, худых мужчин с NIDDM, тучных мужчин с NIDDM, соответственно. (A-Lipoic acid treatment decreases serum lactate and pyruvate concentrations and improves glucose effectiveness in lean and obese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 22:280-287, 1999). Лактат является мерой анаэробного гликолиза. Когда уровень O_2 является недостаточным для образования АТФ посредством окислительного фосфорилирования, клетки могут продуцировать АТФ посредством анаэробного гликолиза. Одним из продуктов анаэробного гликолиза является лактат, который должен экспортироваться из клеток, в ином случае pH падает и функция нарушается. Лактат в крови часто измеряют в исследованиях с физической нагрузкой, где его повышение указывает на рабочую нагрузку, при которой может быть достигнута максимальная окислительная работа. Высокие уровни лактатов в состоянии покоя указывают на увеличенный анаэробный гликолиз в состоянии покоя, который согласуется с разрежением капилляров.

Первичный билиарный цирроз ассоциирован с феноменом Рейно, зудом, сухим кератитом, остеопорозом, портальной гипертензией, невропатией и недостаточностью поджелудочной железы, и аномалии печени ассоциированы с ревматическими заболеваниями. Повышенные уровни ферментов печени являются симптомов воспаления печени, и повышенные уровни ферментов печени наблюдаются в качестве раннего

симптома "бессимптомного" первичного билиарного цирроза. Таким образом, бактерии, описанные в настоящем описании, можно использовать для лечения воспаления печени.

Torre et al. описали, что болезнь Альцгеймера (AD) представляет собой микрососудистое нарушение с неврологической дегенерацией на фоне гипоперфузии, что отчасти является результатом недостаточного количества оксида азота. (Обзор: Evidence that Alzheimer's disease is a microvascular disorder: the role of constitutive nitric oxide, Brain Research Reviews 34 (2000) 119-136). Таким образом, бактерии, описанные в настоящем описании, можно использовать для лечения AD.

Неблагоприятные эффекты на здоровье, которые ассоциированы с гипертензией, также могут быть следствием низкого базового уровня NO. Сниженный ответ на расширение сосудов также согласуется с низким базовым уровнем NO. NO представляет собой способную к диффузии молекулу, которая диффундирует из источника в воспринимающую область, где имеет эффект передачи сигнала. При низких уровнях NO каждый источник NO должен продуцировать больше NO для индукции эквивалентного сигнала NO определенной интенсивности на определенном расстоянии. NO диффундирует в трех измерениях и весь объем в этом диффузионном диапазоне должен быть увеличен до уровня, который даст надлежащий сигнал в воспринимающей области. Это может приводить к более высоким уровням NO в источнике и между источником и воспринимающей областью. Затем могут появляться неблагоприятные эффекты повышенного уровня NO вблизи источника вследствие слишком низкого фонового уровня NO. Существуют некоторые доказательства, что этот сценарий действительно происходит. Henningsson et al. описали, что в островках поджелудочной железы крыс ингибирование NOS посредством L-NAME увеличивают общую продукцию NO путем индукции iNOS. (Chronic blockade of NO synthase paradoxically increases islet NO production and modulates islet hormone release. Am J Physiol Endocrinol Metab 279: E95-E107, 2000). Увеличение уровня NO путем повышения активности NOS действует только до некоторого предела. Когда NOS активируется, но не снабжается достаточным количеством тетрагидробиоптерина (BH4) или L-аргинина, она становится "несопряженной" и образует супероксид (O_2^-) вместо NO. Затем этот O_2^- может разрушать NO. Попытки продуцировать NO со скоростью, которая превышает поступление BH4 или L-аргинина, могут наоборот снизить уровни NO. Это может приводить к положительной обратной связи, где низкие уровни NO снижаются посредством стимуляции NOS, и несопряженная NOS образует достаточно O_2^- , который вызывает локальное повреждение активными формами кислорода (ROS), как наблюдают при атеросклерозе, конечной стадии почечной недостаточности, болезни Альцгеймера и диабете.

Бактерии, описанные в настоящем описании, также можно использовать для замедления признаков старения. Ограничение калорий продлевает жизнь, и Holloszy описал, что ограничение приема пищи до 70% относительно контролей без ограничений продлевает жизнь у малоподвижных крыс от 858 до 1051 суток, практически на 25%. (Mortality rate and longevity of food restricted exercising male rats: a reevaluation. J. Appl. Physiol. 82(2): 399-403, 1997). Связь между ограничением калорий и продлением жизни твердо установлена, однако этиологический механизм, не выяснен. Lopez-Torres et al. описали, что исследование живых митохондриальных ферментов у крыс указывает на снижение продукции H_2O_2 вследствие сниженной активности комплекса I, ассоциированной с ограничением калорий. (Influence Of Aging And Long-Term Caloric Restriction On Oxygen Radical Generation And Oxidative DNA Damage In Rat Liver

Mitochondria. Free Radical Biology & Medicine Vol. 32 No 9 pp882-8899, 2002). H_2O_2

продуцируется посредством дисмутации O_2^- , который является основной ROS, продуцируемой митохондриями в ходе дыхания. Kushareva et al. и другими было

предположено, что основным источником O_2^- является комплекс I, который катализирует образование окислительно-восстановительной пары NAD/NADH посредством обратного тока электронов из комплекса III, участка восстановления сукцината. Предложенная Beckman свободно-радикальная теория старения предполагает, что повреждение свободными радикалами клеточной ДНК, антиоксидантных систем и систем репарации ДНК накапливается при старении и, когда критические системы повреждаются больше, чем репарируются, наступает смерть. (The Free Radical Theory of Aging Matures. Physiol. Rev. 78: 547- 581, 1998).

В качестве дополнительного механизма, Vasa et al. продемонстрировали, что NO активирует теломеразу и замедляет старение эндотелиальных клеток. (Nitric Oxide Activates Telomerase and Delays Endothelial Cell Senescence. Circ Res. 2000;87:540-542.) Низкий базовый уровень NO увеличивает базовую скорость метаболизма путем торможения ингибирования цитохромоксидазы. Увеличенный базовый метаболизм также увеличит обновление и скорость роста клеток. Разрежение капилляров путем индукции хронической гипоксии может увеличивать свободно-радикальное повреждение, а также может увеличить обновление, и, таким образом, ускорить старение посредством

обоих механизмов. В некоторых аспектах будет понятно, что автотрофные окисляющие аммиак бактерии могут обеспечивать защитные аспекты от аллергии и аутоиммунных нарушений.

Наиболее известным аутоиммунным заболеванием является, возможно, диабет 1 типа, который возникает вследствие разрушения продуцирующих инсулин клеток в поджелудочной железе иммунной системой. Невынашивание беременности также ассоциировано с аутоиммунными нарушениями, где количество положительных аутоиммунных антител положительно коррелирует с количеством случаев невынашивания беременности. Другими примерами аутоиммунных нарушений являются системная склеродермия, первичный билиарный цирроз, аутоиммунный гепатит и различные ревматические нарушения. Было выявлено, что применение АОВ уменьшает аллергию, полиноз, как описано в WO/2005/030147.

Один механизм, посредством которого АОВ могут проявлять их защитный эффект в отношении аллергии и аутоиммунных нарушений, опосредуется продукцией оксида азота, в основном путем регуляторного ингибирования NF- κ B и препятствования активации иммунных клеток и индукции воспалительных реакций. NF- κ B представляет собой фактор транскрипции, который активирует экспрессию генов, и многие из этих генов ассоциированы с воспалением и иммунным ответом, включая гены, которые вызывают высвобождение цитокинов, хемокинов и различных факторов адгезии. Эти различные иммунные факторы вызывают миграцию иммунных клеток в область их высвобождения, что приводит к воспалительному ответу. Было показано, что конститутивная продукция NO ингибирует NF- κ B посредством стабилизации I κ B α (ингибитор NF- κ B), препятствуя деградации I κ B α .

Xu et al. показали, что введение донора NO препятствует развитию экспериментального аллергического энцефаломиелита у крыс. (SIN-1, a Nitric Oxide Donor, Ameliorates Experimental Allergic Encephalomyelitis in Lewis Rats in the Incipient Phase: The Importance of the Time Window. The Journal of Immunology, 2001, 166: 5810-5816). В этом исследовании было продемонстрировано, что введение донора NO снижало

инфильтрацию макрофагов в центральную нервную систему, снижало пролиферацию мононуклеарных клеток крови и увеличивало апоптоз мононуклеарных клеток крови. Ожидается, что все из этих результатов уменьшат степень и тяжесть индуцированного аутоиммунного ответа.

5 Низкий базовый уровень NO может приводить к аутизму посредством механизма, состоящего в том, что новые связи в головном мозге недостаточно образуются в результате недостаточного базового уровня оксида азота. Без связи с теорией, в некоторых вариантах осуществления образование нервных связей модулируется NO. В этих случаях любое состояние, которое снижает диапазон диффузии NO, может
10 уменьшить объемный размер элементов головного мозга, которые могут подвергаться формированию связей. Головной мозг, развившийся в условиях низких базовых уровней NO, может быть размещен в меньших элементах объема вследствие сниженного эффективного диапазона NO.

Дополнительные симптомы, имеющиеся у индивидуумов с аутизмом, также могут
15 указывать на низкий уровень NO в качестве причины, включая увеличенную способность к различению высоты тона, нарушения пищеварительного тракта, дисфункцию иммунной системы, сниженный церебральный кровоток, увеличенный расход глюкозы в головном мозге, увеличенный уровень лактата в плазме, нарушения привязанности и невнятная речь. Каждый из этих симптомов может быть объяснен низким базовым
20 уровнем NO.

Takashi Ohnishi et al. сообщили, что индивидуумы с аутизмом имеют сниженный кровоток. Takashi Ohnishi et al., Abnormal regional cerebral blood flow in childhood autism. Brain (2000), 123, 1838-1844. J.M. Rumsey et al. описали, что индивидуумы с аутизмом имеют увеличенный расход глюкозы. Rumsey JM, Duara R, Grady C, Rapoport JL, Margolin
25 RA, Rapoport SI, Cutler NR. Brain metabolism in autism. Resting cerebral glucose utilization rates as measured with positron emission tomography. Arch Gen Psychiatry, 1985 May;42(5): 448-55 (реферат). D.C. Chugani описали, что индивидуумы с аутизмом имеют увеличенные уровни лактата в плазме. Chugani DC, et al., Evidence of altered energy metabolism in autistic children. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1999 May;23(4):635-41. Появление
30 этих эффектов может быть результатом разрежения капилляров в головном мозге, которое может снижать кровоток и снабжение O₂, так что часть метаболической нагрузки головного мозга может быть результатом гликолиза, а не окислительного фосфорилирования.

В. А. Klyachko et al. продемонстрировали, что оксид азота повышает возбудимость
35 нейронов путем увеличения гиперполяризации через модификацию посредством cGMP ионных каналов. Vitaly A. Klyachko et al., cGMP-mediated facilitation in nerve terminals by enhancement of the spike after hyperpolarization. Neuron, Vol. 31, 1015-1025, September 27, 2001. С. Sandie et al. показали, что ингибирование NOS уменьшает страх. Carmen Sandi et al., Decreased spontaneous motor activity and startle response in nitric oxide synthase inhibitor-
40 treated rats. European journal of pharmacology 277 (1995) 89-97. Синдром гиперактивности с дефицитом внимания (ADHD) был смоделирован с использованием крыс со спонтанной гипертензией (SHR) и крыс Naples с высокой возбудимостью (NHE). Raffaele Aspide et al. показали, что обе из этих модели демонстрируют увеличенный дефицит внимания в периоды острого ингибирования NOS. Raffaele Aspide et al., Non-selective attention and
45 nitric oxide in putative animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. Behavioral Brain Research 95 (1998) 123-133. Таким образом, бактерии, описанные в настоящем описании, можно использовать для лечения ADHD.

Также М. R. Dzoljic показал, что ингибирование NOS ингибирует сон. М. R. Dzoljic,

R. de Vries, R. van Leeuwen. Sleep and nitric oxide: effects of 7-nitro indazole, inhibitor of brain nitric oxide synthase. *Brain Research* 718 (1996) 145-150. G. Zoccoli сообщил, что ряд физиологических эффектов, наблюдаемых во время сна, изменяется, когда ингибируется NOS, включая быстрое движение глаз и различия сон-бодрствование в церебральной циркуляции. G. Zoccoli, et al., Nitric oxide inhibition abolishes sleep-wake differences in cerebral circulation. *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol* 280: H2598-2606, 2001. L. Kapas et al. показали, что доноры NO способствуют не-REM сну, однако это увеличение сохранялось значительно дольше чем присутствовал донор NO, что указывает, возможно, на эффект рикошета. Levente Kapas et al.. Nitric oxide donors SIN-1 and SNAP promote nonrapid-eye-movement sleep in rats. *Brain Research Bullitin*, vol 41, No 5, pp. 293-298, 1996. M. Rosaria et al., Central NO facilitates both penile erection and yawning. Maria Rosaria Melis and Antonio Argiolas. Role of central nitric oxide in the control of penile erection and yawning. *Prog Neuro-Psychopharmacol & Biol. Phychiat.* 1997, vol 21, pp 899-922. P. Tani et al. описали, что бессонница является частым явлением у взрослых с синдромом Аспергера. Pekka Tani et al., Insomnia is a frequent finding in adults with Asperger's syndrome. *BMC Psychiatry* 2003, 3:12. Y. Hoshino также наблюдал нарушения сна у детей с аутизмом. Hoshino Y, Watanabe H, Yashima Y, Kaneko M, Kumashiro H. An investigation on sleep disturbance of autistic children. *Folia Psychiatr Neurol Jpn.* 1984;38(1):45-51. (abstract) К.А. Schreck et al. выявили, что тяжесть нарушений сна коррелирует с тяжестью симптомов аутизма. Schreck KA, et al., Sleep problems as possible predictors of intensified symptoms of autism. *Res Dev Disabil.* 2004 Jan-Feb;25(1):57-66. (реферат). Таким образом, бактерии, описанные в настоящем описании, можно использовать для лечения бессонницы.

W. D. Ratnasooriya et al. описали, что ингибирование NOS у самцов крыс снижает прекоитальную активность, уменьшает либидо и снижает фертильность. W. D. Ratnasooriya et al., Reduction in libido and fertility of male rats by administration of the nitric oxide (NO) synthase inhibitor N-nitro-L-arginine methyl ester. *International journal of andrology*, 23: 187-191 (2000).

Возможно, ряд вроде бы различных нарушений, характеризующихся истощением АТФ и конечной недостаточностью органов, в действительности "вызваны" нитропенией, вызванной общим дефицитом базового оксида азота. Когда это происходит в сердце, результатом является дилатационная кардиомиопатия. Когда это происходит в головном мозге, результатом является гиперинтенсивность белого вещества, болезнь Альцгеймера, сосудистая депрессия, сосудистая деменция, болезнь Паркинсона и деменция с тельцами Леви. Когда это происходит в почке, результатом является конечная стадия почечной недостаточности, когда это происходит в печени, результатом является первичный билиарный цирроз. Когда это происходит в мышцах, следствием является фибромиалгия, синдром войны в Персидском заливе или синдром хронической усталости. Когда это происходит в кишечнике, следствием является ишемическое заболевание кишечника. Когда это происходит в поджелудочной железе, следствием является сначала диабет 2 типа, затем хроническое воспаление поджелудочной железы, затем аутоиммунная атака на поджелудочную железу (или рак поджелудочной железы), а затем диабет 1 типа. Когда это происходит в соединительной ткани, следствием является системная склеродермия.

В модели конечной стадии почечной недостаточности с остаточной почкой часть почки удаляют (либо хирургически, либо с использованием токсина), что повышает метаболическую нагрузку на оставшуюся часть. Образуется супероксид, снижая диффузию NO и увеличивая диффузию O₂ в митохондрии почки. Хроническая перегрузка приводит к прогрессирующему разрежению капилляров почки и прогрессирующей

почечной недостаточности. При острой почечной недостаточности проведение у людей диализа может дать почке "отдых", и позволяет ей восстановиться. При острой почечной недостаточности, индуцированной рабдомиолизом (повреждение мышц, которое высвобождает миоглобин в кровоток) повреждение почки характеризуется ишемическим повреждением. Миоглобин улавливает NO, также как и гемоглобин, и вызывает сужение сосудов в почке, ведущее к ишемии. Миоглобин также индуцирует локальную нитропению и каскад событий, ведущих к дальнейшему истощению АТФ.

В некоторых аспектах низкие уровни NO приводят к снижению митохондриального биогенезу. Продукция того же АТФ при сниженной плотности митохондрий приводит к увеличению расхода O_2 или к увеличенной скорости базового метаболизма.

Увеличенная скорость базового метаболизма наблюдается при ряде состояний, включая: серповидноклеточную анемию, застойную сердечную недостаточность, диабет, цирроз печени, болезнь Крона, боковой амиотрофический склероз, ожирение, конечную стадию почечной недостаточности, болезнь Альцгеймера и хроническое обструктивное заболевание легких.

Хотя некоторая часть увеличенного расхода O_2 может использоваться продуктивно, при многих из этих состояний уровень несопряженного белка также повышается, что указывает на то, что по меньшей мере часть увеличенной скорости метаболизма является следствием неэффективности. Условия, при которых известно, что происходит повышение уровня несопряженного белка, включают ожирение и диабет.

Чем меньше митохондрий расходует O_2 для снижения концентрации O_2 , тем больше градиент O_2 , обеспечивающий диффузию O_2 , так что длина пути диффузии O_2 может возрастать, что приводит к разрежению капилляров, которое наблюдается при дилатационной кардиомиопатии, гипертензии, диабете 2 типа и почечной гипертензии.

Медь, в качестве либо Cu^{2+} , либо церулоплазмينا (СР) (главный содержащий Cu сывороточный белок, который присутствует в количестве 0,38 г/л в сыворотке взрослых и который содержит 0,32% Cu и составляет 94% сывороточной меди), катализирует образование S-NO-тиолов из NO и тиол-содержащих групп (RSH). Содержание Cu в плазме варьируется и увеличивается в условиях инфекции. Berger et al. описали, что содержание Cu и Zn в экссудатах ожоговых ран является значительным, причем пациенты с ожогом 1/3 их кожи теряют 20-40% от нормального содержания Cu в организме и 5-10% от содержания Zn в течение 7 суток. (Cutaneous copper and zinc losses in burns. Burns. 1992 Oct;18(5):373-80). Если бы кожа пациентов была колонизирована АОВ, экссудаты ран, которые содержат Fe, Cu и Zn, необходимые для АОВ, конвертировались бы в NO и нитрит, значительно дополняя локальную продукцию NO посредством iNOS без расхода ресурсов (таких как O_2 и L-аргинин) в метаболически нагруженной ране. Можно ожидать, что высокая продукция NO и нитритов посредством АОВ на поверхности раны будет ингибировать инфекцию, особенно анаэробных бактерий, таких как Clostridia, которые вызывают столбняк, газовую гангрену и ботулизм.

При применении на практике настоящего изобретения могут использоваться, если нет иных указаний, общепринятые способы иммунологии, молекулярной биологии и рекомбинантных ДНК, которые известны специалистам в данной области. Такие способы полностью объяснены в литературе. См., например, Sambrook, et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (текущее издание); и Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., текущее издание).

7. Коррекция микробиома кожи посредством окисляющих аммиак бактерий

Настоящее изобретение относится к системам и способам для изменения микробиома

кожи, например, микробиома кожи человека. Системы и способы могут обеспечить лечение инфекций или состояний, например, связанных с кожей, например, кожных инфекций и/или кожных состояний.

Окисляющие аммиак бактерии (АОБ) рода *Nitrosomonas* представляют собой грамотрицательные облигатно-аутоотрофные бактерии с уникальной способностью генерировать нитриты и оксид азота исключительно из аммиака в качестве источника энергии. Они широко присутствуют как в почве, так и в водной среде и являются неотъемлемыми компонентами процессов нитрификации окружающей среды. Благодаря ролям нитритов и оксида азота на коже человека в качестве важных компонентов нескольких физиологических функций, таких как расширение сосудов, воспаление кожи и заживление ран, эти бактерии могут иметь полезные свойства как для здоровья кожи, так и для иммунопатологических кожных состояний. Эти бактерии являются безопасными для применения у человека, поскольку они медленно растут, не могут расти на органических источниках углерода, могут быть чувствительными к мылам и антибиотикам и никогда не ассоциированы с какими-либо заболеваниями или инфекциями у животных или у человека.

Местное введение окисляющих аммиак бактерий индивидууму, например, человеку, может привести к неожиданным изменениям микробиома кожи и, более конкретно, оно может привести к увеличению доли нормальных комменсальных непатогенных видов и к снижению доли потенциально патогенных, патогенных или вызывающих заболевание организмов.

Примеры

Пример 1: Исследования с окисляющими аммиак бактериями для кожи человека: косметические эффекты, безопасность, детекция и метагеномика кожи

Проводили слепое плацебо-контролируемое исследование на 24 добровольцах-людях, рандомизированное 4:1 АОБ к контролю в виде плацебо. Индивидуумы наносили суспензию *Nitrosomonas* (10^9 к.о.е./мл, 2 раза в сутки, всего 3×10^{10} к.о.е. в сутки) на их лицо и кожу черепа два раза в сутки в течение одной недели, и проводили наблюдение в течение двух дополнительных недель после нанесения. Добровольцев инструктировали воздержаться от использования средств для волос в ходе нанесения АОБ в течение одной недели, а также недели после нанесения, а затем они вновь использовали обычный шампунь в течение третьей недели. Мазки с кожи черепа получали на 0 сутки в качестве контролей в виде исходного уровня и на 1, 3, 8, 14 и 21 сутки для оценки присутствия/отсутствия АОБ посредством анализа с использованием ПЦР и секвенирования 16S рРНК.

Не было серьезных неблагоприятных явлений, ассоциированных с применением АОБ в течение одной недели, и продукт был сочтен безопасным. Пользователи АОБ сообщили об очевидном улучшении состояния и качества кожи, на что указывали отчеты о самостоятельной оценке после периода применения в течение семи суток. С помощью АОБ-специфических анализов с использованием ПЦР образцов кожи авторы изобретения смогли продемонстрировать присутствие бактерий у 83-100% пользователей АОБ в ходе периода применения, в то время как в образцах контроля в виде плацебо АОБ обнаружены не были. У всех индивидуумов отсутствовали АОБ в мазках исходного уровня, полученных до начала исследования, что согласуется со спрогнозированной чувствительностью этих бактерий к мылам и другим коммерческим продуктам. Амплификация гена 16S рРНК и секвенирование подгруппы образцов подтвердили присутствие АОБ в соответствующих образцах и указали на потенциальную тенденцию к модулированию микробиома кожи посредством местного нанесения АОБ. В общем,

продукты на основе живых АОВ являются безопасными и могут иметь высокие перспективы в качестве новых саморегулирующихся средств для местной доставки нитритов и оксида азота на кожу человека.

Как показано в таблице 8, ниже, доля *Nitrosomonas* (АОВ) увеличилась при сравнении 0 суток и 8 суток. Доля других бактерий: *Propionibacterium*, *Enterobacter* и *Citrobacter*, снизилась при сравнении 0 суток и 8 суток. Значения p , указанные в таблице 8, демонстрируют, что наиболее значимое изменение между 0 сутками и 8 сутками наблюдалось для *Nitrosomonas* (АОВ), а затем *Propionibacterium*, *Enterobacter* и *Citrobacter* также продемонстрировали изменения между 0 сутками и 8 сутками в меньшей степени.

Таблица 8. Тенденции в составе микробиома после применения АОВ (0 сутки против 8 суток)

Род	Значение P (без внесения поправки)	Кратность изменений	Тенденция
<i>Nitrosomonas</i> (АОВ)	0,0039	10,0	Увеличение
<i>Propionibacterium</i>	0,0078	0,4	Снижение
<i>Enterobacter</i>	0,0346	0,8	Снижение
<i>Citrobacter</i>	0,036	0,6	Снижение

Пример 2 : Плацебо-контролируемое двойное слепое рандомизированное многоцентровое косметическое испытание для оценки эффективности и переносимости косметического средства для улучшения внешнего вида жирной кожи, пор лица и других косметических параметров у склонных к угревой сыпи индивидуумов

Испытание фазы 2b:

Обработка АО+ дымкой (препарат D23 *N. eutropha*) продемонстрировала признаки высокой эффективности как при общей оценке исследователем с использованием Skindex, так и при подсчете очагов воспаления (взрослая группа).

Препарат АО+ дымки, использованный в испытании примера 2, включает окисляющие аммиак бактерии в концентрации 1×10^9 к.о.е./мл в водном буферном растворе 50 мМ Na_2HPO_4 и 2 мМ MgCl_2 .

В течение четырех недель (две недели обработки, две недели периода отмывки) проводили рандомизированное (1:1:1:1) двойное слепое плацебо-контролируемое испытание диапазона доз (2, 4, 8×10^9 к.о.е.) B244 (D23 *N. eutropha*) у 36 взрослых (возраст 18+) с обыкновенными угрями. Исследование имеет 80% мощность для обнаружения 30% суммарного улучшения IGA (% улучшение у индивидуумов) на 2 неделе (объединенная группа B244 против плацебо). Исследование также имеет 80% мощность для обнаружения 30% отличия ($p < 0,05$) в среднем изменении количества очагов от исходного уровня между объединенными группами лечения и плацебо.

Краткое обобщение протокола лечения является следующим. Индивидуумы наносили окисляющие аммиак бактерии на лицо, шею и кожу черепа в течение всего четырех недель. Через четыре недели нанесение окисляющих аммиак бактерий прекращали на одну неделю. Использование совместимого с биомом шампуня и кондиционера происходило в течение полных пяти недель. Клиническую оценку проводили на исходном уровне (0 момент времени), 4 неделе и 5 неделе.

ЦЕЛЬ

Это многоцентровое двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое косметическое испытание в течение 4 недель проводили для оценки общей эффективности косметического средства в отношении внешнего вида кожи и переносимости АО+дымка при использовании мужчинами и женщинами в возрасте 12-45 лет с кожей, склонной к угревой сыпи от мягкой до умеренной.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Всего 83 индивидуума завершили испытание, причем 42 индивидуума использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*) и 41 индивидуум использовал плацебо. В ходе исследования индивидуумов распределяли на применение АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) или плацебо в соответствии с предопределенной рандомизацией. Индивидуумы наносили исследуемый материал на волосы, кожу черепа и лицо два раза в сутки в соответствии с указаниями. Индивидуумы использовали ("совместимое с биомом") стандартизированное мыло и шампунь в качестве вспомогательных материалов: шампунь (образец 293178; показанный как "предпочтительная концентрация" в таблице 5) и очищающее средство (образец 293162; показанный как "предпочтительная концентрация" в таблице 6), один раз в сутки в ходе исследования. После фазы применения в течение 4 недель индивидуумы прекратили применение исследуемого материала (все еще используя вспомогательные материалы) и участвовали в фазе регрессии в течение 1 недели. Клиническую оценку проводили при посещении 1 (исходный уровень), посещении 2 (4 неделя) и посещении 3 (5 неделя). Индивидуумы участвовали в следующих процедурах в каждый момент времени (если нет иных указаний):

- Клиническая оценка степени угревой сыпи

Экспертный клинический оценщик оценивали VISIA каждого индивидуума и самостоятельно сделанные фотографии состояния угревой сыпи после исследования.

- Подсчет угревой сыпи

Экспертный клинический оценщик подсчитывал воспалительные очаги (папулы, пустулы и кисты/узелки) и невоспалительные очаги (открытые и закрытые комедоны) на лбу, левой щеке, подбородке и правой щеке (отдельно) каждого индивидуума.

Общая оценка улучшений исследователем (IGIA)

Исследователь или уполномоченное лицо проводили общую оценку угревой сыпи на лице на 4 неделе и 5 неделе. Описание IGA может быть найдено с помощью U.S. Food and Drug Administration, например, на <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/UCM071292.pdf>: Guidance for Industry; Acne Vulgaris: Developing Drugs for Treatment (U.S. Department of Health and Human Services; Food and Drug Administration; Center for Drug Evaluation and Research (CDER); September 2005, Clinical/Medical).

- Оценка очагов PIH/PIE

Очаги поствоспалительной гиперпигментации/поствоспалительной эритемы (PIH/PIE) отбирали для каждого индивидуума, и экспертный клинический оценщик оценивал выбранные очаги PIH/PIE в отношении степени потемнения и размера.

- Процедуры визуализации

Цифровые изображения получали для лица каждого индивидуума (правая сторона, левая сторона и анфас) с использованием фотостанции VISIA CR (Canfield Imaging Systems, Fairfield, New Jersey) с цифровой зеркальной камерой Canon Mark II 5D (Canon Incorporated, Токио, Япония) с использованием условий освещения стандарта 1 и 2, кроссполяризационного, параллельно поляризованного и УФ-NF освещения. Цифровые изображения с использованием кроссполяризационного освещения анализировали в отношении пор.

- Опросник и самостоятельно сделанные фотографии

Индивидуумы еженедельно делали стандартизированные собственные фотографии ("селфи") с использованием их смартфона и заполнили анкеты.

- Оценка переносимости

Экспертный клинический оценщик оценивал лицо в целом каждого индивидуума в

отношении объективных параметров раздражения (эритема, отек и шелушение), и индивидуумы сообщали о степени субъективных параметров раздражения (покалывание, жжение и зуд).

- Клиническая оценки косметических параметров эффективности

5 Экспертный клинический оценщик оценивал лицо каждого индивидуума в отношении жирного внешнего вида (блеск и тактильные ощущения), внешнего вида пор, сияния, наличия пятен, равномерности тона кожи (цвета), визуальной гладкости и тактильной гладкости.

- Измерения с помощью Sebumeter

10 Измерения с помощью Sebumeter SM 815 (Courage+Khazaka, Германия) в трех экземплярах проводили на лбу для количественного определения кожного сала на коже с использованием фотометрического способа.

- Взятие образцов микробиома

15 Взятие образцов микробиома проводили на спине и шее, за правым ухом и на правой щеке (по 1 из каждого места).

Общие заключения

Общие результаты этого многоцентрового двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого косметического испытания в течение 4 недель показали, что использование исследуемого материала АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) 20 является безопасным и эффективным у индивидуумов с состояниями угревой сыпи от мягкой до умеренной. Было показано, что тяжесть заболевания и количество очагов воспаления у взрослых индивидуумов улучшались при обработке АО+ дымкой. Применение АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*), очень хорошо переносилось индивидуумами без статистически значимого увеличения (ухудшения) показателей 25 клинической оценки эритемы, шелушения, отека, жжения, покалывания и зуда через 4 недели по сравнению с исходными показателями.

В исследовании использовалась стандартная шкала¹ FDA общей оценки угревой сыпи исследователем (IGA) для оценки состояний угревой сыпи с использованием изображений VISIA в полностью слепых условиях. Индивидуумы, которые использовали 30 АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*), продемонстрировали статистически значимое снижение (улучшение) показателей IGA на 4 и 5 неделях по сравнению с исходными показателями. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного уровня показали статистически значимое отличие для определения степени угревой сыпи на 4 неделе в пользу АО+ дымки.

35 (Препарат *Nitrosomonas eutropha*).

Результаты подсчета угревой сыпи для применения АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) продемонстрировали статистически значимое снижение (улучшение) количества папул и воспалительных очагов на 4 и 5 неделях, и общего количества очагов на 4 40 неделе по сравнению с исходным количеством. Хотя не наблюдали статистически значимых отличий между АО+ дымкой (препарат *Nitrosomonas eutropha*) и плацебо, данные показали большее и более длительное снижение количества очагов воспаления у взрослых индивидуумов, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*), как показано на фиг.4. Столбиками АО+ дымки, представленными на графике, являются первый (слева) и третий (слева). Столбиками плацебо, представленными на 45 графике, являются второй (слева) и четвертый (слева).

Сообщенные индивидуумом исходы количественно определяли с использованием опросника для оценки качества жизни Skindex16. АО+ дымка была ассоциирована с изменениями (улучшением) в группе вопросов, которые охватывали эмоциональную

оценку индивидуумом их заболевания. В частности, статистически значимые улучшения наблюдали, в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*), в отношении повреждения при кожном состоянии (2 неделя), персистирования/повторного возникновения кожного состояния (4 неделя), беспокойства по поводу кожного состояния (5 неделя) и внешних проявлений кожного состояния (2, 4 и 5 недели).

Результаты клинической оценки применения АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) продемонстрировали статистически значимое снижение (улучшение) показателей клинической оценки в отношении визуальной и тактильной гладкости на 4 и 5 неделях, и в отношении наличия пятен на 5 неделе по сравнению с исходными показателями.

ОПИСАНИЕ ИССЛЕДУЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ

В таблице 9 и таблице 10 представлено описание каждого исследуемого материала и вспомогательного материала.

ТАБЛИЦА 9: ОПИСАНИЕ ИССЛЕДУЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ

TMIN	ID	Физические свойства	Частота
0052-15C	АО+ дымка (Препарат <i>Nitrosomonas eutropha</i>)	Прозрачная бесцветная жидкость	Два раза в сутки (утром и вечером)
0053-15C	Плацебо	Прозрачная бесцветная жидкость	Два раза в сутки (утром и вечером)

ТАБЛИЦА 10: ОПИСАНИЕ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

TMIN	ID	Физические свойства	Frequency
0099-15C	Очищающее средство (образец 293162)	Светло-желтая прозрачная жидкость	Один раз в сутки
0100-15C	Шампунь (образец 293178)	Светло-желтая прозрачная жидкость	Один раз в сутки

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИВИДУУМОВ И ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Обобщение информации о распределении индивидуумов включено в таблицу 11. Демографическая информация для популяции в соответствии с протоколом (PP) представлена в таблице 12. Для применимых параметров в каждой категории приведено количество индивидуумов с процентом от общего количества индивидуумов в скобках.

ТАБЛИЦА 11: РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИВИДУУМОВ

	Все индивидуумы	АО+ дымка	Плацебо
	n	n	n
Включенные в исследование индивидуумы	98	49	49
Завершившие исследование индивидуумы (популяция PP)	83	42	41
Прекратившие участие индивидуумы	15	7	8
Причина прекращения			
Индивидуум попросил о прекращении	7	5	2
Не соблюдение режима	3	0	3
Утрачен для наблюдения	5	2	3

ТАБЛИЦА 12: ОБОБЩЕНИЕ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ - ВЫБОРКА PP

	Все индивидуумы	АО+ дымка	плацебо
N	83	42	41
Возраст (лет)			
Среднее значение	19,8	18,9	20,8
Стандартное отклонение	8,5	7,6	9,3
Минимум	12	12	12
Медиана	17,0	16,0	17,0
Максимум	44	40	44

		n(%)	n(%)	n(%)
	Пол			
	Женский	50 (60,2)	23 (54,8)	27 (65,9)
	Мужской	33 (39,8)	19 (45,2)	14 (34,1)
5	Этническая принадлежность/раса			
	Азиаты	8 (9,6)	4 (9,5)	4 (9,8)
	Черные или афро-американцы	9 (10,8)	5 (11,9)	4 (9,8)
	Испанская или латиноамериканцы	6 (7,2)	2 (4,8)	4 (9,8)
	Белые	50 (60,2)	24 (57,1)	26 (63,4)
	Многорасовые	10 (12,0)	7 (16,7)	3 (7,3)
10	Тип кожи			
	Комбинированная	49 (59,0)	22 (52,4)	27 (65,9)
	Нормальная	15 (18,1)	7 (16,7)	8 (19,5)
	Жирная	19 (22,9)	13 (31,0)	6 (14,6)
	Тип кожи по Фицпатрику			
	I	2 (2,4)	2 (4,8)	0 (0,0)
15	II	6 (7,2)	5 (11,9)	1 (2,4)
	III	49 (59,0)	21 (50,0)	28 (68,3)
	IV	19 (22,9)	10 (23,8)	9 (22,0)
	V	7 (8,4)	4 (9,5)	3 (7,3)
	Тип угревой сыпи			
	Подростковая угревая сыпь	55 (66,3)	30 (71,4)	25 (61,0)
20	Взрослая угревая сыпь	28 (33,7)	12 (28,6)	16 (39,0)
	Возрастная группа (лет)			
	12-15	33 (39,8)	16 (38,1)	17 (41,5)
	16-18	22 (26,5)	14 (33,3)	8 (19,5)
	19-28	12 (14,5)	5 (11,9)	7 (17,1)
	>28	16 (19,3)	7 (16,7)	9 (22,0)

ПРОЦЕДУРЫ И СПОСОБЫ

Перед началом исследования потенциальных индивидуумов подвергали скринингу по телефону с использованием IRB-одобренного сценария в отношении критериев пригодности. Подростков и взрослых мужского и женского пола в возрасте от 12 и 45 лет с собственной оценкой кожи как нормальный, жирный или комбинированный тип, записывали на скрининг для оценки пригодности в клинике. Потенциальных участников инструктировали удалять весь макияж по меньшей мере за 3 часа до каждого запланированного посещения.

При 1 посещении (исходный уровень), потенциальные участники в возрасте 18 лет или старше или родители/официальные опекуны любого индивидуума младше 18 лет прочитывали и подписывали форму информированного согласия после того, как им была объяснена природа исследования и были даны ответы на все касающиеся исследования вопросы. Потенциальные младшие индивидуумы прочитывали и подписывали форму согласия. Потенциальным участникам, которые подписывали этот первоначальный документ, присваивали скрининговый номер и их оценивали в отношении следующих критериев пригодности:

- Классификация кожи по Фицпатрику: установленные типы I-V

Классификация кожи по Фицпатрику основана на ответе незащищенной кожи на первые 30-45 минут воздействия солнца после зимнего сезона без воздействия солнца. Категории типов кожи представлены в таблице 13:

Таблица 13.

Тип	Физические характеристики	Реакция кожи на УФ
I	Белая; очень светлая; рыжие или светлые волосы; голубые глаза; веснушки	Всегда легко сгорает; никогда не загорает

II	Белая; светлая; рыжие или светлые волосы; голубые, карие или зеленые глаза	Всегда легко сгорает; загорает минимально
III	Светло-кремовая; светлая с любым цветом глаз или волос; очень распространена	Сгорает умеренно; загорает постепенно
IV	Коричневая; типичная средиземноморская белая кожа	Сгорает минимально; всегда хорошо загорает
V	Темно-коричневая; ближневосточные типы кожи, черные волосы, оливковая кожа	Редко сгорает; загорает выраженно
VI	Черная; черные волосы, черные глаза, черная кожа	Никогда не сгорает; глубоко пигментирована

- Клинически установленная угревая сыпь от мягкой до умеренной согласно комбинированной шкале тяжести угревой сыпи (минимум 5-50 воспалительных очагов и 5-100 воспалительных очагов для оценки).

- По меньшей мере 1 заданный очаг PИH/PIE на лице

Предполагаемые участники заполняли анкету для оценки пригодности для включения в исследования и здоровья. Подвергнутые скринингу индивидуумы, которые удовлетворили требованиям пригодности, были включены в исследование и им был присвоен номер индивидуума. Индивидуумы участвовали в следующих процедурах:

- **Клиническая оценка параметров косметической эффективности**

Индивидуумов клинически оценивал вслепую экспертный клинический оценщик в отношении следующих параметров косметической эффективности в целом на лице с использованием модифицированной 10-бальной Гриффитса в соответствии со следующими числовыми определениями (причем при необходимости присваивались показатели в полбала для точного описания состояния кожи):

0=нет (наилучшее возможное состояние)

1-3=мягкое

4-6=умеренное

7-9=тяжелое (наихудшее возможное состояние)

Следующие параметры (таблица 14) оценивали в соответствии с перечисленными параметрами оценки:

Таблица 14.

Параметр	0 =	9 =
Жирный внешний вид (блеск и тактильное ощущение)	Нет блеска, ровный/матовый внешний вид	Сильный блеск/жирный внешний вид
Внешний вид пор	Небольшие, непроницаемые, едва заметные поры	Большие заметные поры
Сияние	Сияющий, здоровый внешний вид	Вялый/тусклый и/или болезненный внешний вид
Наличие пятен	Нет пятен/чистая	Внешний вид кожи с пятнами
Равномерность тона (цвета) кожи	Равномерный здоровый цвет кожи	Неравномерный неправильно окрашенный внешний вид
Визуальная гладкость	Гладкая, равномерно выглядящая текстура кожи	Грубая, неравномерно выглядящая текстура кожи
Тактильная гладкость	гладкая, равномерная на ощупь текстура кожи	Грубая, неравномерная на ощупь текстура кожи

- **Оценка очагов PИH/PIE**

Экспертный клинический оценщик вслепую выбирал очаги поствоспалительной гиперпигментации/поствоспалительной эритемы (PИH/PIE) на лице каждого индивидуума и оценивал очаги повреждения в отношении потемнения и размера с использованием следующей оценочной шкалы:

Потемнение

1 - Немного светлее, чем тон/цвет окружающей кожи

2 - Соответствует тону/цвету окружающей кожи (нет видимых PИH/PIE)

3 - Немного более темный/красный, чем тон/цвет окружающей кожи

4. Умеренно темнее/краснее, чем тон/цвет окружающей кожи
 5 - Значительно темнее/краснее, чем тон/цвет окружающей кожи
 6 - В наивысшей степени темнее/краснее, чем тон/цвет окружающей кожи

Размер

- 5 0 - Невидим
 1-0,5 мм или менее в диаметре
 2 - более 0,5 мм и до 1,5 мм в диаметре
 3 - Более 1,5 мм и до 2,5 мм в диаметре
 4 - Более 2,5 мм в диаметре

10 - Подсчет угрей

Экспертный клинический оценщик вслепую подсчитывал и регистрировал количество воспалительных угревых очагов (папул, пустул и кист/узелков) и невоспалительных угревых очагов (открытые комедоны и закрытые комедоны) отдельно на лбу, левой щеке, подбородке и правой щеке каждого индивидуума (исключая очаги на носу, под линией подбородка или вдоль линии волос, включая брови).

15 - Оценка переносимости

Локальную кожную переносимость оценивали посредством оценки признаков и симптомов объективного и субъективного раздражения на лице в целом каждого индивидуума (область косметической обработки). Оценивали следующие параметры

- 20 раздражения:
 - Объективное раздражение (клинически оцененное): эритема, отек и шелушение.
 - Субъективное раздражение (оцененное индивидуумами): покалывание, жжение и зуд.

Результаты оценок раздражения регистрировали с использованием следующей шкалы (причем при необходимости присваивали показатели в полбала для лучшего описания клинического состояния):

Эритема

- 0=Нет - нет эритемы на области косметической обработки
 1=Мягкая - Небольшое, но отчетливое покраснение области косметической обработки
 30 2=Умеренная - Явное покраснение области косметической обработки
 3=Тяжелая - Выраженное покраснение области косметической обработки

Отек

- 0=Нет - Нет отека/опухания области косметической обработки
 1=Мягкий - Небольшой, но отчетливый отек области косметической обработки
 35 2=Умеренный - Явный отек области косметической обработки
 3=Тяжелый - Выраженный отек области косметической обработки

Шелушение

- 0=Нет - Нет шелушения области косметической обработки
 1=Мягкое - Едва заметные мелкие чешуйки в ограниченных зонах области косметической обработки
 40 2=Умеренное - Несильное шелушение, генерализованное на все зоны области косметической обработки
 3=Тяжелое - Шелушение и отслаивание кожи по всем зонам области косметической обработки

45 Покалывание

- 0=Нет - Нет покалывания в области косметической обработки
 1=Мягкое - Слабое покалывающее ощущение в области косметической обработки; мало беспокоящее

2=Умеренное - Отчетливое покалывание в области косметической обработки, которое иногда беспокоит

3=Тяжелое - Выраженное покалывающее ощущение в области косметической обработки, которое вызывает явный дискомфорт и может нарушать повседневную активность и/или сон

Жжение

0=Нет - Нет жжения в области косметической обработки

1=Мягкое - Слабое ощущение жжения в области косметической обработки; мало беспокоящее

2=Умеренное тепло, жжение в области косметической обработки, которое иногда беспокоит

3=Тяжелое - Ощущение горячего жжения в области косметической обработки, которое вызывает явный дискомфорт и может нарушить повседневную активность и/или сон.

Зуд

0=Нет - Нет зуда в области косметической обработки

1=Мягкий - Слабое ощущение зуда в области косметической обработки; не очень беспокоящее

2=Умеренный - Явный зуд в области косметической обработки, который иногда беспокоит

3=Тяжелый - Выраженное ощущение зуда в области косметической обработки, которое вызывает явный дискомфорт и может нарушать повседневную активность и/или сон.

Индивидуумы акклиматизировались к условиям температуры окружающей среды и влажность в течение по меньшей мере 15 минут перед участием в процедурах исследования на биологической аппаратуре/визуализации/взятия образцов микробиома. В ходе исследования подходящие комнаты для ожидания/для аппаратного исследования поддерживались при температуре от 68°F до 75°F (от 20°C до 24°C) и относительная влажность находилась в диапазоне от 35% до 65%.

После акклиматизации индивидуумы участвовали в следующих процедурах:

- Измерения на Sebumeter

Измерения на Sebumeter SM 815 (Courage+Khazaka, Германия) в трех экземплярах проводили на лбу для количественного определения кожного сала с использованием фотометрического способа, независимо от влажности. Измерение проводят по передаче света через Sebutape, синтетический материал, который становится прозрачным при контакте с кожным салом. Микропроцессор в Sebumeter вычисляет количество (мкг кожного сала/см²) на поверхности кожи, исходя из прозрачности Sebutape.

- Процедуры визуализации

Перед процедурами фотографирования клинический персонал убеждался, что индивидуумы имеют чистое лицо без макияжа и индивидуумы сняли все ювелирные изделия с области(ей), подлежащей фотографированию. Индивидуумам предоставляли черную или серую матовую головную повязку, чтобы держать волосы в стороне от лица и черную матовую рубашку, или черной или серой матовой тканью накрывали одежду индивидуума. Индивидуумов инструктировали принять нейтральное выражение лица без улыбки со спокойно закрытыми глазами, и их тщательно располагали для каждой фотографии.

Изображения лица целиком каждого индивидуума (изображения центра, правой стороны и левой стороны) получали с использованием фотостанции VISIA CR (Canfield

Imaging Systems, Fairfield, New Jersey) с цифровой зеркальной камерой Canon Mark II 5D (Canon Incorporated, Tokyo, Япония) под стандартным освещением 1 (видимое), стандартным освещением 2 (видимое/светлое), в условиях кроссполяризованного, параллельно поляризованного и UV-NF освещения.

5 - Процедуры с микробиомом

Взятие образцов микробиома проводили на задней части шеи, за правым ухом и на правой щеке (по 1 из каждой области) каждого индивидуума. Щетку извлекали из ее стерильной упаковки, держали за стержень вдали от щетки, энергично протирали приблизительно 20 раз и вращали на протяжении 3 дюймов (7,6 см) области взятия образца. Затем щетку помещали в пробирку (на которой было обозначено время) и стержень обрезали, чтобы пробирка могла быть закрыта. Мазки с кожи собирали и замораживали при -80°C для последующей экстракции ДНК и определения профиля микробиома.

Индивидуумов инструктировали, как еженедельно делать стандартизованные собственные фотографии ("селфи") с использованием их смартфонов и заполнять анкеты.

Индивидуумам распределяли единицы вспомогательных материалов, и их инструктировали применять шампунь (образец 293178) один раз в сутки на волосы и кожу черепа и использовать средство для очистки (образец 293162) один раз в сутки на лицо в течение исследования. Среди индивидуумов распределяли предварительно взвешенную единицу исследуемого материала, АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*), или плацебо в соответствии с заданной рандомизацией.

Индивидуумам давали следующие устные или письменные инструкции по применению:

25 Инструкции по применению

Нанести исследуемый материал (по меньшей мере 6 выкачивания каждый раз) на волосы, кожу черепа и лицо два раза в сутки (каждое утро и вечер) после очистки и до сна, и никогда не непосредственно перед душем. Не наносить никакой макияж (основа, тень для век и т.д.) в течение 1 часа после нанесения продукта и использовать минимальное количество.

Индивидуумам предоставляли письменные инструкции по применению, инструкции по исследованию, календарь посещений в исследовании и ежедневный дневник для записи времени применения продукта.

Индивидуумы возвращались в клинику для 2 посещения (4 неделя) и участвовали в следующих процедурах:

- Персонал клиники регистрировал сопутствующий прием лекарственных средств и задавал вопросы индивидуумам об изменении в их состоянии здоровья. При необходимости регистрировались неблагоприятные явления.

- Ежедневные дневники собирали, изучали в отношении соблюдения режима и оставляли в клинике. Раздавали новые дневники.

- Единицы тестируемых материалов собирали, визуально исследовали, взвешивали в отношении соблюдения режима и оставляли в клинике. Вспомогательные материалы визуально исследовали в отношении соблюдения режима и возвращали индивидуумам.

- Индивидуумы участвовали в следующих процедурах, как описано для исходного уровня:

- Клиническая оценка параметров косметической эффективности
- Оценка очагов PИN/PIE
- Подсчет угревой сыпи

- Оценка переносимости
- Индивидуумы участвовали в следующей процедуре:
- Общая оценка улучшения исследователем (IGA) проводилась с использованием следующей шкалы и числовых определений:

5 1=Ухудшение

2=Нет улучшения

3=Слабое улучшение

4=Умеренное улучшение

5=Выраженное улучшение

10 - Индивидуумы акклиматизировались в течение по меньшей мере 15 минут, а затем участвовали в следующих процедурах, как описано для исходного уровня:

- Измерения с использованием Sebumeter

- Процедуры визуализации

- Взятие образцов микробиома

15 После завершения оценок на 4 неделе индивидуумы участвовали в периоде регрессии, длившемся 1 неделю, где использование тестируемого материала прекращали (вспомогательные материалы все еще использовались). Индивидуумы возвращались в клинику для 3 посещения (5 неделя) и участвовали в следующих процедурах:

20 - Персонал клиники регистрировал сопутствующий прием лекарственных средств и задавал вопросы индивидуумам об изменении в их состоянии здоровья. При необходимости регистрировались неблагоприятные явления.

- Ежедневные дневники собирали, изучали в отношении соблюдения режима и оставляли в клинике.

25 - Единицы вспомогательных материалов собирали, визуально исследовали в отношении соблюдения режима и оставляли в клинике.

- Индивидуумы участвовали в следующих процедурах, как описано для исходного уровня и 4 недели:

- Клиническая оценка параметров косметической эффективности

- Оценка очагов PИН/PIE

30 - Подсчет угревой сыпи

- Оценка переносимости

- Индивидуумы акклиматизировались в течение по меньшей мере 15 минут, а затем участвовали в следующих процедурах, как описано для исходного уровня:

- Измерения с использованием Sebumeter

35 - Процедуры визуализации

- Взятие образцов микробиома

После завершения процедур исследования 5 недели клинический оценщик вслепую проводил следующую процедуру:

- **Оценка угревой сыпи**

40 Клиническую оценку угревой сыпи проводили с использованием модифицированной 10-бальной Гриффитса³ (где 0=нет угревой сыпи и 9=тяжелая угревая сыпь) на изображениях VISIA, полученных в клинике на исходном уровне, 4 неделе и 5 неделе, и на собственных фотографиях индивидуумов, сделанных на исходном уровне и на 1, 2, 3, 4 и 5 неделях для скрининга какого-либо усиления исходной угревой сыпи индивидуума.

Кроме того, изображения VISIA клинически оценивали в отношении угревой сыпи с использованием шкалы IGA¹ FDA (0-4):

0=Чистое - Нет воспалительных или невоспалительных очагов

1=Практически чистое - Редкие невоспалительные очаги с не более чем одним небольшим воспалительным очагом

2=Мягкое - Больше, чем степень 1, некоторые невоспалительные очаги не более чем с несколькими воспалительными очагами (только папулы/пустулы, без узелковых

3=Умеренное - Больше, чем степень 2, вплоть до множества невоспалительных очагов, и могут иметь некоторые воспалительные очаги, но не более одного небольшого узелкового очага

4=Тяжелая - Больше, чем степень 3, вплоть до множества невоспалительных и воспалительных очагов, но не более чем несколько узелковых очагов

БИОСТАТИСТИКА И ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Популяция в соответствии с протоколом (PP) представляла собой первичную популяцию для всего статистического анализа. Популяция PP включала индивидуумов, которые считались пригодными для участия в исследовании и завершили исследование в соответствии с протоколом. Анализировали только данные завершивших исследование индивидуумов. Индивидуумы могли быть исключены из анализа в случае AE, SAE, не соблюдения режима или по решению исследователя.

Измерения с использованием Sebumeter в трех экземплярах для каждого индивидуума и в каждый момент времени усредняли перед статистическим анализом.

Цифровые изображения, полученные с использованием условий кроссполяризационного освещения, анализировали в отношении пор с использованием Macroversion "Pore_20121207", разработанной Stephens & Associates с использованием программного обеспечения Image Pro Plus v7 (MediaCybernetics, Inc., Rockville, Maryland). Для анализа на щеке выбирали представляющую интерес область неправильной формы. Сообщались величины количества пор (подсчет), общей площади, охваченной порами и средней глубины пор в анализе.

Данные подсчета угревой сыпи анализировали следующим образом для каждой оцениваемой области и для 4 оцениваемых областей в целом (лоб, правая щека, левая щека и подбородок):

- Папулы, пустулы, кисты/узелки, открытые комедоны и закрытые комедоны по отдельности.

- Воспалительные очаги угревой сыпи (совокупность папул, пустул и кист/узелков) и невоспалительные очаги угревой сыпи (совокупность открытых комедонов и закрытых комедонов) по отдельности

- Очаги повреждения в целом (все 5 типов угревой сыпи в целом)

Для данных оценки косметической эффективности, данных оценки очагов PИH/PИE, подсчета угревой сыпи, данных оценки переносимости, измерения с использованием Sebumeter и параметров анализа изображений пор, предоставлена описательная статистика, включая количество наблюдений (N), среднее значение, медиану, стандартное отклонение (SD), минимум (MIN) и максимум (MAX) при всех посещениях.

Среднее значение изменения от исходного уровня (определяемое как величина после исходного уровня минус величина исходного уровня) оценивали в каждый использованный момент времени после исходного уровня. Нуль-гипотезу, состоявшую в том, что среднее изменение от исходного уровня равно нулю, оценивали на 4 неделе и тестировали с использованием критерия знаковых рангов Уилкоксона для параметров оценки косметической эффективности, оценки угревой сыпи, подсчета угревой сыпи, анализа изображений в отношении количества пор (подсчета) и оценок переносимости, и парного t-критерия для измерений с использованием Sebumeter и анализа изображений

в отношении пор (общая площадь, покрытая порами и средняя глубина пор). Для фазы регрессии проводили сходный анализ для изменения на 5 неделе относительно 4 недели, включая исследование общей оценки улучшений исследователем с использованием критерия знаковых рангов Уилкоксона.

5 Процентное среднее изменение от исходного уровня/4 неделя и процент индивидуумов, демонстрирующих улучшение или ухудшение, вычисляли с использованием следующих формул:

Процентное среднее изменение от исходного уровня=(средний показатель при посещении-средний показатель на исходном уровне)×100
10 исходном уровне

Процент индивидуумов с улучшением/ухудшением=(количество индивидуумов с улучшением/ухудшением от исходного уровня)×100 общее количество индивидуумов

Сравнения между ячейками обработки проводили на 4 неделе с точки зрения изменений от исходного уровня. Нуль-гипотезу, состоявшую в том, что среднее 15 изменение от исходного уровня является равным между 2 ячейками обработки, тестировали в отношении всех параметров (за исключением общей оценки улучшений исследователем) в каждый соответствующий момент времени после исходного с использованием критерия суммы рангов Уилкоксона для параметров оценки косметической эффективности, оценки угревой сыпи, подсчета угревой сыпи, анализа 20 изображений в отношении количества пор (подсчета) и оценки переносимости, и двухвыборочного t-критерия для измерений с использованием Sebumeter и анализа изображений в отношении пор (общая охватываемая площадь и средняя глубина пор).

Для фазы регрессии сходный анализ проводили на 5 неделе с точки зрения изменений относительно 4 недели, включая тестирование общей оценки улучшений исследователем 25 с использованием критерия суммы рангов Уилкоксона.

Общие статистические результаты, а также статистические результаты, стратифицированные по возрасту (12-15, 16-18, 19-28, 29 и выше), полу (мужской/женский), взрослой угревой сыпи (возраст 19 и выше) и подростковой угревой сыпи (возраст менее 19 лет) и типу кожи по Фицпатрику (III, IV, и V [анализ по I и II не 30 проводили вследствие малого размера выборки]) представлены для клинической оценки параметров косметической эффективности, оценки очагов PИH/PIE, оценки угревой сыпи, подсчета угревой сыпи, общей оценки улучшения исследователем, измерений на Sebumeter и анализа изображений в отношении размера пор. Кроме того, представлена таблица с демографическими данными по способу обработки для возраста, пола, 35 взрослой и подростковой угревой сыпи и типа кожи по Фицпатрику.

Для оценки угревой сыпи коэффициент ранговой корреляции Спирмена для оценок с использованием 2 шкал (шкала Гриффитса³ и шкала FDA¹) вычисляли для каждого соответствующего момента времени и способа обработки.

40 Статистический критерий предусматривался для нуль-гипотезы, состоящей в том, что коэффициент корреляции равен 0. Не проводили сравнения обработок. Сходные коэффициенты корреляции вычисляли для модифицированных показателей Гриффитса из изображений VISIA и собственных фотографий.

Получали данные SkinDex, сообщенный индивидуумом исход, который оценивает качество жизни, которые включали ответы на 16 вопросов каждого индивидуума на 45 исходном уровне и на 2, 4 и 5 неделях. Для данных SkinDex представлена таблица частот, включая количество и процент. Сходный анализ предоставлен для данных клинической оценки, включая анализ данных согласно возрасту, полу, взрослой и подростковой угревой сыпи, и типу по Фицпатрику.

Информация по Skindex может быть найдена на: [http://www.researchgate.net/publication/51646907_Using_the_Skindex-16_and_Common_Terminology_Criteria_for_Adverse_Events_to_assess_rash_symptoms_results_of_a_pooled-analysis_\(N0993\)](http://www.researchgate.net/publication/51646907_Using_the_Skindex-16_and_Common_Terminology_Criteria_for_Adverse_Events_to_assess_rash_symptoms_results_of_a_pooled-analysis_(N0993)).

5 Предоставляли опросник, содержащий ответы индивидуумов на 37 вопросов, данные на 1, 2, 3, 4 и 5 неделях.

Для вопросов 1-19 ответы находились в диапазоне от 0 (ухудшение) до 6 (улучшение). Для остальных вопросов ответ находился в диапазоне от -1 (нет/отсутствует изменение) до 1 (да/положительное изменение).

10 Таблица частот, которая включала количество и процент индивидуумов, которые выбирали каждую опцию ответа, представлена для данных опросника. Кроме того, биномиальный (знаковый) тест проводили для тестирования, является ли доля комбинированных указанных благоприятных/положительных ответов равной объединенным указанным неблагоприятным/отрицательным ответам на каждый вопрос
15 в каждый момент времени. Сравнение обработок проводили с использованием точного критерия Фишера. Для вопросов #1-#19, нуль-гипотеза теста состоит в том, что доля благоприятных/неблагоприятных/нейтральных ответов является равной между типами обработки. Для остальных вопросов нуль-гипотеза теста состоит в том, что доля положительных/отрицательных ответов является равной между типами обработки.

20 Анализ данных также проводили в соответствии с возрастом, полом, взрослой и подростковой угревой сыпью и типом по Фицпатрику.

Все статистические критерии были 2-сторонними при уровне значимости альфа=0,05. Значения P указаны до 3 десятичных знаков (0,000). В исследовании не учитывалась поправка на множественные сравнения. Статистический анализ проводили с
25 использованием программного обеспечения SAS software version 9.30 series (SAS Statistical Institute).

Клиническую оценку и измерение на аппаратуре для биологических исследований проводили с использованием электронной системы получения данных (EDC) Stephens. EDC Stephens представляет собой компьютерную систему, предназначенную для
30 получения клинических данных в электронном формате. 3 основных аспекта EDC состоят в графическом пользовательском интерфейсе для введения данных, подтверждающего компонента для проверки пользовательских данных и инструмента отчетности для анализа собранных данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

35 Клиническая оценка угревой сыпи по изображениям

Для индивидуумов, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*), происходило статистически значимое снижение (улучшение) показателей оценки угревой сыпи на изображениях VISIA с использованием шкалы FDA¹ на 4 и 5
40 неделях и с использованием шкалы Гриффитса³ на 5 неделе по сравнению с исходными показателями. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного уровня для показателей оценки угревой сыпи показало статистически значимое отличие при оценке угревой сыпи по изображениям VISIA с использованием шкалы FDA¹ на 4 неделе в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*).

45 Анализ коэффициента корреляции из результатов оценки изображений показал статистически значимую положительную корреляцию между показателями оценки угревой сыпи на изображениях VISIA на исходном уровне, 4 неделе и 5 неделе (коэффициенты корреляции находились в диапазоне 0,495-0,847), что указывает на то,

что собственные фотографии могут быть приемлемым подходом для документирования прогресса в ходе клинических испытаний.

Подсчет угревой сыпи

Все индивидуумы

5 Индивидуумы, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*), имели статистически значимое снижение (улучшение) количества всего для 4 оцениваемых областей (лоб, левая щека, подбородок и правая щека) для папул и воспалительных угрей на 4 и 5 неделях и для общих очагов повреждения на 4 неделе по сравнению исходным количеством. Индивидуумы, которые использовали плацебо, 10 имели статистически значимое снижение (улучшение) количеств всего для 4 оцениваемых областей в отношении открытых комедонов, закрытых комедонов, невоспалительных угрей и общих очагов повреждения на 4 и 5 неделях и в отношении папул и воспалительных угрей на 4 неделе по сравнению с исходными количествами. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного уровня в 15 отношении количеств угрей всего для 4 оцениваемых областей показали статистически значимое отличие для закрытых комедонов на 4 неделе в пользу плацебо.

Взрослые индивидуумы с угревой сыпью

Индивидуумы, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*), имели статистически значимое снижение (улучшение) количеств угрей всего для 4 20 оцениваемых областей (лоб, левая щека, подбородок и правая щека) в отношении папул, воспалительных угрей и общих очагов повреждения на 4 и 5 неделях по сравнению с исходными количествами. Индивидуумы, которые использовали плацебо, имели статистически значимое снижение (улучшение) количеств угрей всего для 4 25 оцениваемых областей в отношении закрытых комедонов, невоспалительных угрей и общих очагов на 4 и 5 неделях и в отношении открытых комедонов на 5 неделе по сравнению с исходными количествами. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного уровня для количеств угрей всего для 4 областей 30 показало статистически значимое отличие для папул на 4 неделе в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) и для невоспалительных угрей на 5 неделе в пользу плацебо.

Оценка очагов PИH/PIE

Все индивидуумы

Индивидуумы, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*) или плацебо, имели статистически значимое снижение (улучшение) показателей оценки 35 очагов PИH/PIE в отношении потемнения и размера очага 1 и очага 2 на 4 и 5 неделях по сравнению с исходными показателями. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения относительно исходного уровня для показателей оценки PИH/PIE показало статистически значимое отличие для размера очага 1 на 4 неделе в пользу плацебо.

40 Взрослые индивидуумы с угревой сыпью

Индивидуумы, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*) или плацебо, имели статистически значимое снижение (улучшение) показателей оценки 45 очагов PИH/PIE в отношении потемнения очага 1 на 4 и 5 неделях и размера очага 1 на 5 неделе, и в отношении размера очага 1 на 4 неделе для плацебо по сравнению с показателями исходного уровня. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения относительно исходного уровня для показателей оценки PИH/PIE показали отсутствие статистически значимых отличий.

SkinDex16

Результаты данных SkinDex 16 для индивидуумов, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*) показали статистически значимое снижение (улучшение) показателей ответа для следующих вопросов и моментов времени по сравнению с исходными показателями:

- 5 - Беспокойство о состоянии кожи-2 неделя
- Внешний вид кожи-2, 4 и 5 недели
- Расстроенность из-за состояния кожи-2 и 4 недели
- Смушение из-за состояния кожи-2 и 5 недели
- Раздражение из-за состояния кожи-2 и 4 недели

- 10 Результаты для индивидуумов, которые использовали плацебо, показали статистически значимое увеличение (ухудшение) показателей ответа на вопрос "персистирование/повторное возникновение кожного состояния" на 4 неделе по сравнению с исходными показателями. Это показано на фиг.2А. Столбиками АО+ дымки, представленными на графике, являются первый (слева) и третий (слева).
- 15 Столбиками плацебо, представленными на графике, являются второй (слева) и четвертый (слева). На фиг.3А также представлено улучшение персистирования кожного состояния на 2 неделе, 4 неделе и 6 неделе с использованием АО+ дымки. Линия, изображающая данные для АО+ дымки, находится выше линии, изображающей данные для плацебо.

- Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного
- 20 уровня для показателей ответа SkinDex показали статистически значимое отличие по следующим вопросам в указанные моменты времени в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*):

- Повреждение в результате кожного состояния-2 неделя
- Персистирование/повторное возникновение кожного состояния-4 неделя
- 25 - Беспокойство о кожном состоянии-5 неделя
- Внешние проявления кожного состояния-2, 4 и 5 недели

Оценка переносимости

Все индивидуумы и угревая сыпь взрослых

- Использование АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) или плацебо не приводило
- 30 к какому-либо статистически значимому увеличению (ухудшению) показателей оценки переносимости для эритемы, шелушения, отека, жжения, покалывания и зуда на 4 и 5 неделях по сравнению с исходными показателями или в ходе фазы регрессии, когда 5 неделю сравнивали с 4 неделей.

- Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения относительно
- 35 исходного уровня для показателей оценки переносимости показало отсутствие статистически значимых отличий на 4 и 5 неделях.

Клиническая оценка параметров косметической эффективности

Все индивидуумы

- Индивидуумы, которые использовали исследуемый материал, АО+ дымку (препарат
- 40 *Nitrosomonas eutropha*), в течение 4 недель имели статистически значимое снижение (улучшение) показателей клинической оценки в отношении наличия пятен на 5 неделе (регрессия) и визуальной и тактильной гладкости на 4 и 5 неделях (регрессия) по сравнению с исходными показателями.

- Индивидуумы, которые использовали плацебо, имели статистически значимое
- 45 снижение (улучшение) показателей клинической оценки в отношении жирного внешнего вида (блеск и ощущение) на 4 неделе по сравнению с исходными показателями.

Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения относительно исходного уровня для показателей клинической оценки показало статистически значимое

отличие для наличия пятен на 5 неделе в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*).

Взрослые индивидуумы с угревой сыпью

Индивидуумы, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*), имели статистически значимое снижение (улучшение) показателей клинической оценки в отношении наличия пятен на 5 неделе и тактильной гладкости на 4 неделе по сравнению с исходными показателями. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного уровня для показателей клинической оценки показало статистически значимое отличие для наличия пятен и равномерности тона (цвета) кожи на 5 неделе в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*).

Измерения с использованием Sebumeter

Угревая сыпь всех индивидуумов и взрослых

Таблицы 15, 16 и 17 относятся к результатам измерения на Sebumeter, и они демонстрируют, что применение АОВ снижало уровни кожного сала на лице пациентов с угревой сыпью. Считают, что избыток кожного сала вносит вклад в угревую сыпь.

Таблица 15. C15-CD035 Описательная статистика для измерений с использованием Sebumeter

Параметр	Обработка	Момент времени	N (всего доступных)	Среднее значение	Стандартное отклонение	Минимум	Медиана	Максимум
Результаты измерения с использованием Sebumeter	АО+ дымка	Исходный уровень	18	151,69	39,76	109,33	153,52	222,33
		4 неделя	18	117,17	54,98	56,67	99,17	217,67
		5 неделя	18	128,94	63,61	45,67	108,17	240,33
	Плацебо	Исходный уровень	18	154,50	47,68	100,67	142,67	249,33
		4 неделя	18	148,89	62,53	42,00	143,33	248,33
		5 неделя	18	120,56	67,96	38,67	112,00	299,00

Таблица 16. C15-CD035 Изменение относительно исходного уровня статистики для результатов измерений с использованием Sebumeter

Параметр	Обработка	Момент времени	N (Всего доступных)	Индивидуумы с улучшением, %	Индивидуумы с ухудшением, %	Среднее изменение	Стандартное отклонение для изменения	Среднее изменение, %	Значение P парного Т-критерия ^a
Результаты измерения с использованием Sebumeter	АО+ дымка	4 неделя	18	77,8	22,2	-34,52	39,96	-22,8	0,002
		5 неделя	18	61,1	38,9	-22,74	46,27	-15,0	0,052
	Плацебо	4 неделя	18	50,0	50,0	-5,61	46,91	-3,6	0,619
		5 неделя	18	77,8	22,2	-33,94	54,56	-22,0	0,017
^a Вычислено из парного t-критерия									
Исследуемая гипотеза состоит в том, что среднее изменение от исходного уровня равно нулю.									

Таблица 17. C15-CD035 Сравнения между обработками для результатов измерения с использованием Sebumeter

Параметр	Момент времени	Сравнение	Оцененное отличие (SE)	значение P для попарных сравнений ^a
Результаты измерений с использованием Sebumeter	4 неделя	АО+ дымка против плацебо	-28,91 (14,52)	0,055
	5 неделя	АО+ дымка против плацебо	11,20 (16,86)	0,511
^a Вычислено из t-критерия для двух выборок.				
Исследуемая гипотеза состоит в том, что среднее изменение от исходного уровня является равным между способами обработки.				

Анализ изображений для параметров пор

Отсутствовали статистически значимые изменения в данных анализа изображений для количества пор, общей площади, охватываемой порами и средней глубины пор на 4 неделе по сравнению с исходными величинами для любого исследуемого материала.

Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного уровня для данных анализа изображений показали статистически значимые отличия для средней глубины пор на 4 неделе в пользу плацебо.

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЯ

Общие результаты этого многоцентрового двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого косметического испытания в течение 4 недель показали, что использование исследуемого материала, АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*), продемонстрировало безопасность и эффективность для лечения угревой сыпи от мягкой до умеренной. Все из тяжести заболевания, сообщенного индивидуумами качества жизни и количества воспалительных очагов продемонстрировали улучшение в группе обработки АО+ с курсом обработки 4 недели. Оказалось, что обработка АО+ имеет особенно полезные эффекты на состояние угревой сыпи у взрослых индивидуумов.

В исследовании использовалась стандартная шкала FDA общей оценки угревой сыпи исследователем (IGA)¹ для оценки состояний угревой сыпи с использованием изображений VISIA в полностью слепых условиях. Результаты оценки угревой сыпи по изображениям VISIA показали, что индивидуумы, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*), имели статистически значимое снижение (улучшение) показателей IGA при использовании шкалы FDA¹ на 4 и 5 неделях и показателей при использовании шкалы Гриффитса³ на 5 неделе по сравнению с исходными показателями. Сравнения между исследуемыми материалами на основе изменения от исходного уровня показало статистически значимое отличие для оценки угревой сыпи с использованием шкалы FDA¹ на 4 неделе в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) (см. фиг.1).

Результаты подсчета угревой сыпи показали, что использование АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) приводило к статистически значимому снижению (улучшению) количества папул и воспалительных очагов на 4 и 5 неделях и общего количества очагов на 4 неделе по сравнению с исходными количествами. Хотя не наблюдали статистически значимых отличий между АО+ дымкой (препарат *Nitrosomonas eutropha*) и плацебо, данные показали лучшее и более длительное уменьшение количества угрей у взрослых индивидуумов, которые использовали АО+ дымку (препарат *Nitrosomonas eutropha*).

Исследуемый продукт в исследовании, АО+ дымка, содержащий живые *Nitrosomonas eutropha*, конвертирует аммиак в поту в окисленный нитрит и оксид азота локально. Ожидается, что этот механизм потенциально может смягчить основные причины угревой сыпи путем уменьшения локального воспаления и снижения пролиферации патогенных бактерий. Уменьшение количества папул и воспалительных очагов и оценка IGA с использованием VISIA в относительно короткий период, составляющий 4 недели, согласуется с ожидаемым механизмом АО+ дымки. На фиг.1 показаны улучшенные результаты IGA на 4 неделе с использованием АО+ дымки по сравнению с плацебо. Столбиками АО+ дымки, представленными на графике, являются первый (слева) и третий (слева). Столбиками плацебо, представленными на графике, являются второй (слева) и четвертый (слева).

В доклинических испытаниях более высокие концентрации *Nitrosomonas eutropha* демонстрируют усиленные противомикробные эффекты против вызывающего угревую сыпь организма *Propionibacterium acne* и ускоренное заживление кожи. Сообщенные

индивидуумами исходы определяли с использованием опросника для оценки качества жизни Skindex16. АО+ дымка была ассоциирована с изменениями (улучшениями) в

группе вопросов, охватывающих эмоциональную оценку индивидуумами их заболевания. В частности, наблюдали статистически значимое улучшение в пользу АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*), для повреждения вследствие кожного состояния (2 неделя), персистирувания/повторного возникновения кожного состояния (4 неделя) (см. фиг.2А), беспокойства о кожном состоянии (5 неделя) и внешних проявлениях кожного состояния (2, 4 и 5 недели). Внешние проявления кожного состояния значительно улучшались, как можно видеть на фиг.2В. Столбиками АО+ дымки, представленными на графике, являются первый (слева) и третий (слева). Столбиками плацебо, представленными на графике, являются второй (слева) и четвертый (слева). На фиг.3В также представлено улучшение внешних проявлений кожного состояния на 2 неделе, 4 неделе и неделе 6 с использованием АО+ дымки. Линия, изображающая данные для АО+ дымки, находится выше линии, изображающей данные для плацебо.

Результаты клинической оценки для использования АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*) продемонстрировали статистически значимое снижение (улучшение) показателей клинической оценки для визуальной и тактильной гладкости на 4 и 5 неделях по сравнению с исходными показателями и в отношении наличия пятен на 5 неделе по сравнению с исходными показателями и с плацебо.

Использованием исследуемого материала, АО+ дымки (препарат *Nitrosomonas eutropha*), было очень хорошо переносимым индивидуумами без статистически значимого увеличения (ухудшения) показателей клинической оценки для эритемы, шелушения, отека, жжения, покалывания и зуда на 4 неделе по сравнению с исходными показателями.

Встречаемость АЕ составляла приблизительно 2%, и она согласуется со спонтанном сообщенной встречаемостью приблизительно 3000 пользователями АО+ дымки. Этот профиль безопасности и переносимости является привлекательными для многих популяций, включая женщин и подростков.

Это клиническое испытание является одним из первых, где использовались собственные фотографии ("селфи") для фотографирования угревых состояний лица в ходе испытания. Для определения того, являются ли собственные фотографии достаточного качества для клинической оценки, фотографии, сделанные индивидуумами, и изображения VISIA-CR, полученные в клинике, оценивались обученным оценщиком вслепую. Анализ коэффициента корреляции для результатов оценки показал статистически значимую положительную корреляцию между показателями оценки

угревой сыпи из изображений VISIA (с использованием шкалы Гриффитса³) и из собственных изображений (с использованием шкалы Гриффитса³) на 4 неделе и 5 неделе (коэффициенты корреляции находились в диапазоне 0,692-0,847), что указывает на то, что собственные фотографии индивидуумов могут быть приемлемым подходом для документирования прогресса в ходе клинических испытаний.

ССЫЛКИ

1. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: acne vulgaris: developing drugs for treatment. September 2005. <http://www.fda.gov>.

2. Shai, A., Maibach, HI, Baran, R. Baran. Acne in Handbook of Cosmetic skin Care. Publisher Martin Duntiz Ltd., Chapter 9, 81-100, 2001.

3. Griffiths CE, Wang TS, Hamilton TA, Voorhees JJ, Ellis CN. A photometric scale for the assessment of cutaneous photodamage. *Arch Dermatol*. 1992;128(3):347-351.

4. Rizer, RL, Mills, OH, Trookman, NS. The assessment of acne: a re-evaluation of grading strategies. Scientific Poster, Annual Meeting of the Am. Acad. Dermatol (2001).

Включение в качестве ссылок

Все публикации и патенты, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме, как если бы каждая индивидуальная публикация или патент были конкретно и индивидуально указаны, как включенные в

Хотя конкретные варианты осуществления настоящего изобретения описаны, представленное выше описание является иллюстративным, но не ограничивающим. Многие модификации изобретения станут очевидными специалистам в данной области при изучении этого описания и формулы изобретения ниже. Полный объем изобретения должен быть определен на основе формулы изобретения, а также ее полных эквивалентов, и описания, вместе с такими модификациями.

Определенные варианты осуществления представлены в следующей формуле изобретения.

(57) Формула изобретения

1. Способ лечения воспалительных и невоспалительных угревых очагов у индивидуума, включающий:

введение в форме спрея, аэрозоля или дымки препарата, содержащего живые окисляющие аммиак бактерии, на кожу индивидуума в количестве, эффективном для лечения воспалительных и невоспалительных угревых очагов.

2. Способ по п. 1, где воспалительный очаг включают папулу, пустулу или кисту/узелок.

3. Способ по п. 1, где невоспалительный очаг включает открытый комедон или закрытый комедон.

4. Способ по п. 1, где введение обеспечивает лечение или улучшение одного или нескольких из эритемы, отека, шелушения, покалывания, жжения и зуда.

5. Способ по п. 1, где введение обеспечивает лечение или улучшение одного или нескольких из жирного внешнего вида, внешнего вида пор, сияния, наличия пятен, равномерности тона кожи, визуальной гладкости и тактильной гладкости.

6. Способ по п. 1, дополнительно включающий определение того, нуждается ли индивидуум в лечении угрей.

7. Способ по п. 1, где препарат окисляющих аммиак бактерий включает буферный раствор.

8. Способ по п. 7, где буферный раствор представляет собой водный буферный раствор, по существу состоящий из дифосфата натрия и хлорида магния.

9. Способ по п. 1, где окисляющие аммиак бактерии наносят на любое одно или несколько из лица, шеи, кожи черепа, головы, плеча, руки, ноги, предплечья, туловища, ступни, колена, лодыжки или ягодицы индивидуума.

10. Способ по п. 1, где препарат окисляющих аммиак бактерий дополнительно содержит эксципиент.

11. Способ по п. 1, где окисляющие аммиак бактерии выбраны из группы, состоящей из *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* и их комбинаций.

12. Способ по п. 11, где окисляющие аммиак бактерии представляют собой *Nitrosomonas eutropha* (*N. eutropha*).

13. Способ по п. 12, где окисляющие аммиак бактерии представляют собой *N. eutropha* D23, имеющие номер доступа ATCC PTA-121157.

14. Способ по п. 1, где препарат применяют в течение 7-28 суток.

15. Способ по п. 1, где средство для лечения угревой сыпи, выбранное из группы, состоящей из: местного ретиноида, азелаиновой кислоты, салициловой кислоты, местного противомикробного средства, перорального антибиотика, бензоилпероксида, перорального антиандрогена, перорального изотретиноина и их комбинаций, вводят индивидууму.

16. Способ по п. 1, где препарат содержит живые окисляющие аммиак бактерии, способные превращать аммиак и аммоний в нитрит со скоростью по меньшей мере 50 микромолей нитрита в минуту.

10

15

20

25

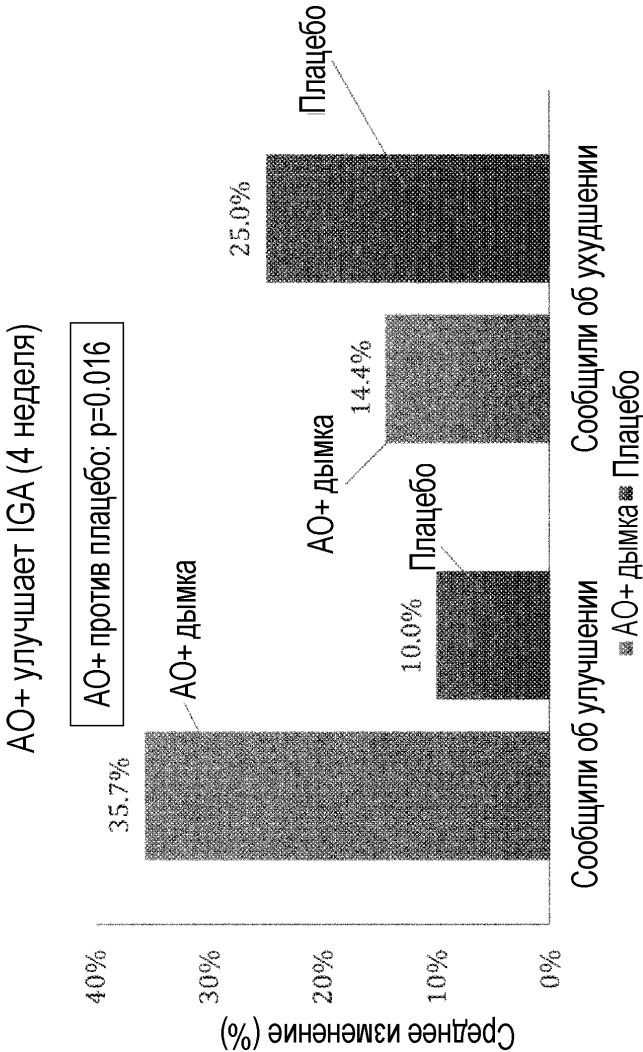
30

35

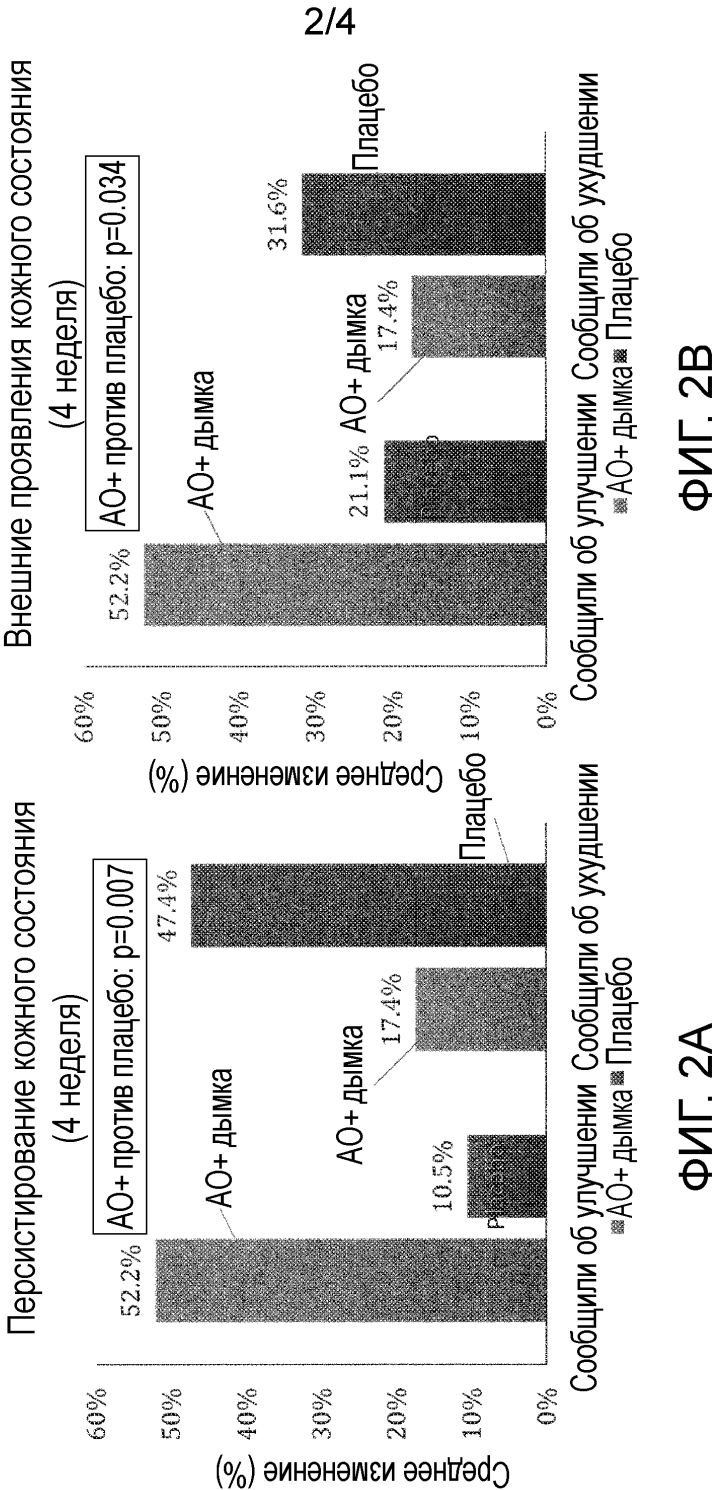
40

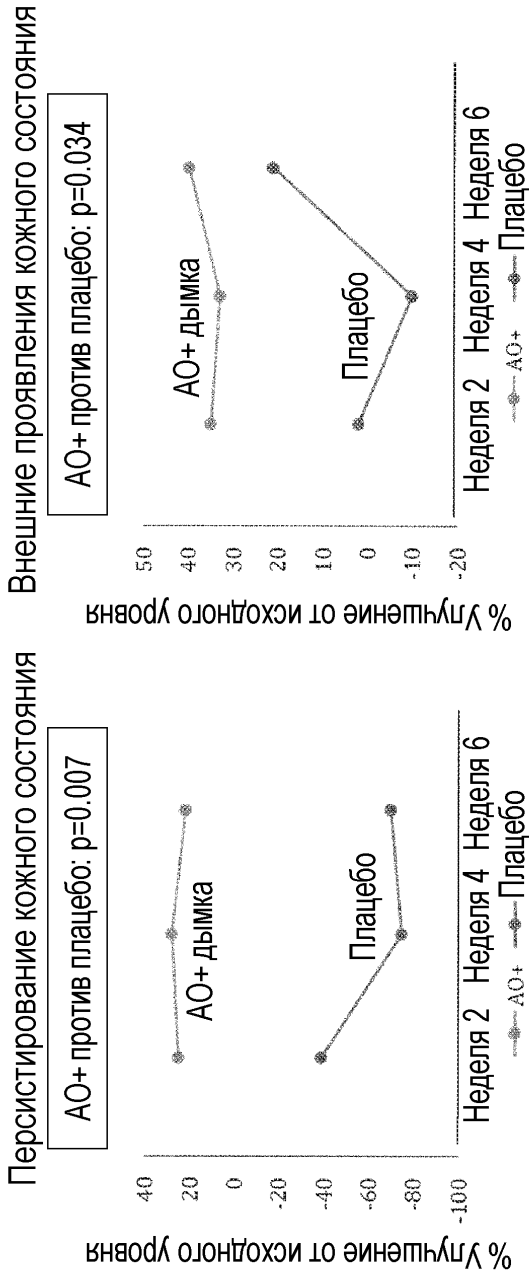
45

1/4



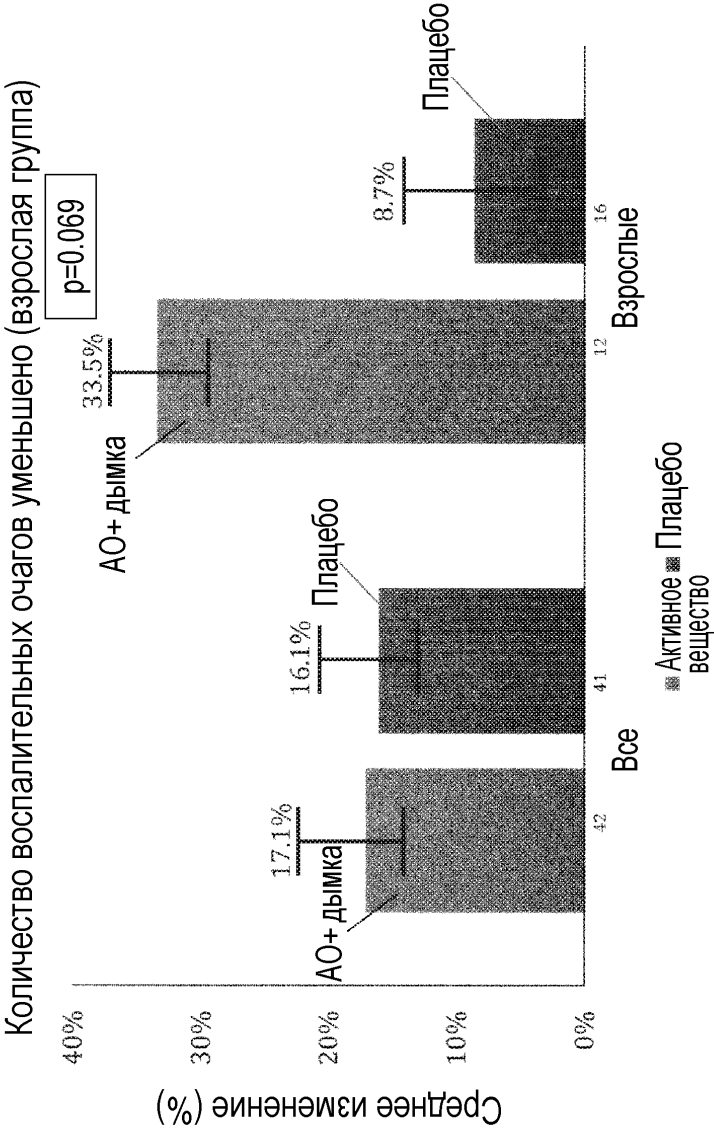
ФИГ. 1





ФИГ. 3А

ФИГ. 3В



ФИГ. 4