



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 698 32 267 T2 2006.08.10

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 0 975 227 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 698 32 267.3

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US98/07307

(96) Europäisches Aktenzeichen: 98 918 115.1

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 1998/047374

(86) PCT-Anmeldetag: 10.04.1998

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 29.10.1998

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 02.02.2000

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 09.11.2005

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 10.08.2006

(51) Int Cl.⁸: A61K 35/74 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61L 15/36 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

44643 P 18.04.1997 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Ganeden Biotech, Inc., La Jolla, Calif., US

(72) Erfinder:

FARMER, Sean, La Jolla, US; MIKHAIL, J., Robert, El Cajon, US

(74) Vertreter:

Rechts- und Patentanwälte Lorenz Seidler Gossel,
80538 München

(54) Bezeichnung: OBERFLÄCHIGE VERWENDUNG VON PROBIOTISCHEN BACILLUSPOREN ZUR VERHINDUNG ODER BEKÄMPFUNG VON MIKROBIELLEN INFektIONEN

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**Technisches Gebiet**

[0001] Diese Erfindung betrifft die Verwendung eines probiotischen *Bacillus coagulans*-Organismus in einer therapeutischen Zusammensetzung als ein topisches Mittel und betrifft spezifisch die Verwendung von Zusammensetzungen, die aus *Bacillus coagulans* abgeleitet sind, zur Prävention und Bekämpfung von mikrobiellen Infektionen.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Probiotische Mittel sind Organismen, welche einen Vorteil vermitteln, wenn sie in einer bestimmten Umgebung wachsen, oft durch Inhibieren des Wachstums anderer biologischer Organismen in der gleichen Umgebung. Beispiele für Probiotika schließen Bakterien und Bakteriophagen ein, welche, wenigstens vorübergehend, im Darm wachsen können, um Pathogene zu verdrängen oder zu zerstören und dem Wirtsorganismus andere Vorteile zur Verfügung zu stellen (Salminen et al., Antonie Van Leeuwenhoek, 70 (2–4): 347–358, 1996; Elmer et al., JAMA, 275: 870–876, 1996; Rafter, Scand. J. Gastroenterol., 30: 497–502, 1995; Perdigon et al., J. Dairy Sci., 78: 1597–1606, 1995; Gandi, Townsend Lett. Doctors & Patients, S. 108–110, Jan. 1994; Lidbeck et al., Eur. J. Cancer Prev. 1: 341–353, 1992). Probiotische Präparate wurden hinsichtlich ihrer Wirkung auf Gesundheit und Langlebigkeit in den frühen 1900er-Jahren systematisch ausgewertet (Metchnikoff, E., *Prolongation of Life*, Wilham Heinemann, London, 1910; wieder veröffentlicht von G. P. Putnam's Sons, New York, NY, 1970). Seit der Entdeckung und weitverbreiteten Anwendung von Antibiotika etwa in den 1950er-Jahren zur Behandlung von pathologischen Mikroben ist die Verwendung von Probiotika begrenzt gewesen.

[0003] Die weltverbreitete Anwendung von antimikrobiellen Arzneimitteln, speziell Breitband-Antibiotika, hat ernsthafte Folgen hervorgerufen. Individuen, welche Antibiotika einnehmen, leiden oft unter Magen-Darm-Unruhe, wenn nutzbringende Mikroorganismen im Darm getötet werden, wodurch das Gleichgewicht der Darmflora verändert wird. Dieses Ungleichgewicht kann zu Vitaminmangel, wenn vitaminerzeugende Darmbakterien getötet werden, und/oder zu Krankheit führen, wenn ein pathogener Organismus die nutzbringenden Darm-Mikroorganismen überwächst und ersetzt. Zusätzlich zur Darm-Mikroflora können nutzbringende und/oder pathologische Mikroorganismen die Mundhöhle, den Genitalbereich und die Vagina bewohnen (Thomason, J. L., et al., Am. J. Obstet. Gynecol. 165 (4 Pt. 2): 1210–1217, 1991; Marsh, P. D., Caries Res. 27 (Suppl. 1): 72–76, 1993; Lehner, T., Vaccine 3(1): 65–68, 1985; Hill, L. V., & Embil, J. A., Can. Med. Assoc. J. 134(4): 321–331, 1986). Die Verwendung von antimikrobiellen Arzneimitteln kann in gleicher Weise ein Ungleichgewicht in jenen Mikroorganismen verursachen, und die therapeutische Verwendung probiotischer Bakterien, speziell *Lactobacillus*-Stämmen, welche diese Bereiche kolonisieren, ist offenbart worden (Winberg, J., et al., Pediatr. Nephrol. 7(5): 509–514, 1993; Malin, M., et al., Ann. Nutr. Metab. 40(3): 137–145, 1996; U.S.-Patent Nr. 5 176 911).

[0004] Zunehmende Zahlen von pathogenen Mikroorganismen haben Antibiotika-Resistenz entwickelt, was die Entwicklung und Anwendung von Antibiotika der zweiten und dritten Generation erforderlich macht. Mikroorganismen, welche resistent gegen mehrere Arzneimittel sind, haben sich ebenfalls entwickelt, wobei sich oft die Mehrfach-Arzneimittel-Resistenz zwischen Spezies ausbreitet, was zu schweren Infektionen führt, welche nicht durch die Verwendung von Antibiotika bekämpft werden können.

[0005] Opportunistische mikrobielle Infektionen treten häufig bei immundefizienten Individuen auf. Immundefiziente Individuen weisen eine beeinträchtigte natürliche Immunität auf, was pathogenen Mikroorganismen gestattet, aufgrund der verminderten Immunantwort des Individuums gegenüber dem Pathogen, zu überleben und, entweder intern oder extern, zu wachsen. Eine Immundefizienz kann aus genetischen Zuständen, Krankheiten, wie AIDS, oder therapeutischen Behandlungen, wie Krebstherapien (Chemotherapie oder Strahlungsbearbeitung) und Arzneistoffvermittelter Immununterdrückung im Anschluss an eine Organtransplantation resultieren. Die Inhibition von pathogenen Mikroorganismen durch Probiotika ist nützlich zur Verhinderung oder Behandlung opportunistischer Infektionen, insbesondere in immundefizienten Individuen.

[0006] Somit besteht ein Bedarf nach vorbeugenden und therapeutischen Mitteln, welche das Wachstum pathogener Mikroorganismen ohne die Verwendung von antibiotischen Chemikalien bekämpfen können, gegen welche die Mikroorganismen bereits resistent sind oder werden können. Probiotika können entweder intern oder extern angewandt werden, um das Gleichgewicht von nutzbringenden Mikroorganismen zu Pathogenen wiederherzustellen, ohne zur Entstehung von Arzneimittel-resistenten Pathogenen beizutragen.

[0007] Milchsäure herstellende Bakterien (z. B. *Bacillus*-, *Lactobacillus*- und *Streptococcus*-Spezies) sind als

Nahrungsmitteladditive verwendet werden, und es bestehen einige Behauptungen, dass sie einen nährstoffmäßigen und therapeutischen Wert bereitstellen (Gorbach, S. L., Ann. Med. 22(1): 37–41, 1990; Reid, G., et al., Clin. Microbiol. Rev. 3(4): 335–344, 1990). Einige Milchsäure produzierende Bakterien (z. B. diejenigen, die zur Herstellung von Joghurt verwendet werden) besitzen vorgeschlagenermaßen antimutagene und antikarzinogene Eigenschaften, die nützlich zur Verhinderung von Tumoren beim Menschen sind (Pool-Zobel, B. L., et al., Nutr. Cancer 20(3): 261–270, 1993; U.S.-Patent Nr. 4 347 240). Einige Milchsäure erzeugenden Bakterien stellen ebenfalls Bacteriocine her, welche inhibitorische Metabolite sind, die für die antimikrobioellen Effekte der Bakterien verantwortlich sind (Klaenhammer, T. R., FEMS Microbiol. Rev. 12(1–3): 39–85, 1993; Barefoot, S. F. & Nettles, C. G., J. Dairy Sci. 76(8): 2366–2379, 1993).

[0008] Ausgewählte *Lactobacillus*-Stämme, welche Antibiotika erzeugen, sind als wirksam für die Behandlung von Infektionen, Sinusitis, Hämorrhoiden, Zahnentzündungen und anderen Entzündungszuständen beschrieben worden (U.S.-Patent Nr. 4 314 995). *L. reuteri* erzeugt Antibiotika mit Aktivität gegen gramnegative und grampositive Bakterien, Hefe und ein Protozoon (U.S.-Patent Nr. 5 413 960 und U.S.-Patent Nr. 5 439 678). Es wurde gezeigt, dass *L. casei* ssp. *rhamnosus*-Stamm LC-705, DSM 7061, allein oder in Kombination mit einer *Propionibacterium*-Spezies, in einem Fermentations-Nährmedium, Hefe und Schimmelpilze in Lebensmitteln und Silage inhibiert (U.S.-Patent Nr. 5 378 458). Des Weiteren sind antifungale *Serratia*-Spezies zu Tierfutter und/oder Silage zugesetzt worden, um die Tiertuttermaterialien zu konservieren, insbesondere *S. rubidaea* FB299, allein oder kombiniert mit einem antifungalnen *B. subtilis* (Stamm FB260) (U.S.-Patent Nr. 5 371 011).

[0009] *Bacillus coagulans* ist ein nicht-pathogenes, grampositives sporenbildendes Bakterium, welches L(+)-Milchsäure (rechtsdrehend) in Homofermentations-Bedingungen herstellt. Es ist aus natürlichen Quellen, wie wärmebehandelten Bodenproben, welche in ein Nährstoffmedium inkuliert wurden, isoliert worden (Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Band 2, Sneath, P. H. A., et al., Hrsg., Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1986). Gereinigte Stämme von *B. coagulans* dienten als Quelle von Enzymen, einschließlich Endonukleasen (z. B. U.S.-Patent Nr. 5 200 336), Amylase (U.S.-Patent Nr. 4 980 180), Lactase (U.S.-Patent Nr. 4 323 651) und Cyclo-Maltodextrin-Glucano-Transferase (U.S.-Patent Nr. 5 102 800). *B. coagulans* ist verwendet worden, um Milchsäure herzustellen (U.S.-Patent Nr. 5 079 164). Ein Stamm von *B. coagulans* (bezeichnet als *L. sporogenes* Sakaguti & Nakayama (ATCC 31284)) ist mit anderen Milchsäure erzeugenden Bakterien und *B. natto* kombiniert worden, um ein fermentiertes Lebensmittelprodukt aus gedünsteten Sojabohnen herzustellen (U.S.-Patent Nr. 4 110 477). *B. coagulans*-Stämme sind auch als Tierfutter-Additive für Geflügel und Vieh verwendet worden, um Erkrankungen zu verringern und die Futterverwertung zu verbessern und deswegen die Wachstumsrate bei den Tieren zu erhöhen (Internationale PCT-Patentanmeldungen Nr. WO 9314187 und Nr. WO 9411492).

Zusammenfassung der Erfindung

[0010] Es ist nun festgestellt worden, dass *Bacillus coagulans* die Fähigkeit besitzt, probiotische Aktivität unter aeroben Bedingungen, wie auf Haut- oder Schleimhautmembran-Geweben, aufzuzeigen und dadurch zahlreiche Befunde zu behandeln, zu bekämpfen und/oder zu inhibieren, welche durch mikrobielle Infektionen verursacht werden. Die Erfindung beschreibt therapeutische Zusammensetzungen, Erzeugnisartikel und Anwendungsverfahren zum Inhibieren verschiedener mikrobieller Infektionen, die durch Bakterien, Hefe, Pilz oder Virus verursacht werden, welche isolierten *Bacillus coagulans* einsetzen.

[0011] Gemäß der Erfindung wird eine Zusammensetzung vorgesehen, umfassend ein isoliertes *Bacillus coagulans*-Bakterium in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, geeignet zur topischen Aufbringung auf Haut oder eine Schleimhautmembran eines Säugers. In einer Ausführungsform der Zusammensetzung ist der *Bacillus coagulans* in der Form von Sporen in der Zusammensetzung eingeschlossen. In einer anderen Ausführungsform ist *Bacillus coagulans* in der Zusammensetzung in der Form einer getrockneten Zellmasse eingeschlossen. In der Zusammensetzung kann der Träger eine Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder eine halbfeste Formulierung sein.

[0012] Gemäß eines bevorzugten Aspekts der Erfindung wird eine Zusammensetzung vorgesehen, umfassend ein extrazelluläres Produkt einer *Bacillus coagulans*-Spezies in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, geeignet für die topische Anwendung auf Haut oder eine Schleimhautmembran eines Säugers. In einer Ausführungsform ist das extrazelluläre Produkt ein Überstand oder Filtrat einer Kultur einer isolierten *Bacillus coagulans*-Spezies. Der Träger kann eine Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder halbfeste Formulierung sein.

[0013] Gemäß eines anderen Aspekts der Erfindung wird die Verwendung einer Zusammensetzung vorgesehen, umfassend ein *Bacillus coagulans*-Bakterium oder dessen extrazelluläres Produkt in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger für die Herstellung eines Medikamentes zur Verhinderung einer Bakterien-, Hefe-, Pilz- oder Vireninfektion, wobei das Medikament geeignet für die topische Anwendung auf Haut- oder eine Schleimhautmembran eines Säugers ist, und wobei der Träger in der Form einer Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder halbfesten Formulierung vorliegt.

[0014] In einer weiteren Ausführungsform ist das *Bacillus coagulans*-Bakterium in der Zusammensetzung in der Form von Sporen eingeschlossen. In einer Ausführungsform inhibiert das Medikament das Wachstum von einer oder mehreren Mikrobenarten, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus *Staphylococcus*-Spezies, *Streptococcus*-Spezies, *Pseudomonas*-Spezies, *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Propionibacterium acnes*, *Aeromonas hydrophilia*, *Aspergillus*-Spezies, *Proteus*-Spezies, *Aeromonas*-Spezies, *Clostridium*-Spezies, *Klebsiella*-Spezies, *Candida*-Spezies und *Trichophyton*-Spezies. Auch bestimmte Virus-Spezies werden inhibiert.

[0015] Gemäß eines anderen Aspekts der Erfindung wird die Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend ein extrazelluläres Produkt einer isolierten *Bacillus coagulans*-Spezies in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, für die Herstellung eines Medikaments zum Inhibieren des Wachstums von Bakterien, Hefe, Pilz, Virus oder einer Kombination davon vorgesehen, wobei das Medikament geeignet für die topische Anwendung auf Haut oder eine Schleimhautmembran eines Säugers ist, und wobei der Träger in der Form einer Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder halbfesten Formulierung vorliegt.

[0016] Gemäß eines anderen Aspekts der Erfindung wird eine Zusammensetzung vorgesehen, umfassend ein isoliertes *Bacillus coagulans*-Bakterium oder dessen extrazelluläres Produkt, aufgebracht auf einen flexiblen Gegenstand, welcher beabsichtigtermaßen von einem Säugern getragen oder an die Haut oder eine Schleimhautmembran des selbigen angeheftet wird, um eine probiotische Aktivität des isolierten *Bacillus coagulans*-Bakteriums oder seines extrazellulären Produkts angrenzend zu oder auf der Haut oder Schleimhautmembran stattfinden zu lassen.

[0017] Gemäß eines anderen Aspekts der Erfindung wird die Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend ein isoliertes *Bacillus coagulans*-Bakterium oder dessen extrazelluläres Produkt, aufgebracht auf eine feste Oberfläche, für die Herstellung eines Medikaments zum Inhibieren des Wachstums von Bakterien, Hefe, Pilz, Virus oder einer Kombination hiervon vorgesehen, wobei das Medikament für die Aufbringung auf die Haut oder Schleimhautmembran eines Säugers geeignet ist. In einer Ausführungsform schließt die Anwendung auf eine feste Oberfläche das Aufbringen der Zusammensetzung auf eine Windel, ein geschmeidiges Material zum Abwischen von Haut oder einer Schleimhautmembran, ein Hautpflaster, Klebeband, ein absorptionsfähiges Polster, einen Tampon oder ein Kleidungsstück ein. In einer anderen Ausführungsform schließt die Anwendung auf eine feste Oberfläche das Imprägnieren der Zusammensetzung in eine faserartige oder nicht-faserartige feste Matrix ein.

[0018] Die Erfindung stellt mehrere Vorteile bereit. Insbesondere insofern ein schädlicher Effekt hinsichtlich der Verwendung von Antibiotika aufgrund des Potenzials, Antibiotika-resistente mikrobielle Spezies zu erzeugen, vorliegt, ist es wünschenswert, eine antimikrobielle Therapie zu besitzen, welche nicht die herkömmlichen antimikrobiellen Reagenzien verwendet. Die vorliegende Erfindung trägt nicht zur Hervorbringung einer künftigen Generation von Antibiotika-resistenten Pathogenen bei.

[0019] Es sollte verstanden werden, dass sowohl die vorangehende allgemeine Beschreibung als auch die folgende ausführliche Beschreibung lediglich beispielhaft und erklärend und nicht einschränkend für die Erfindung sind, wie sie beansprucht wird.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

[0020] Die vorliegende Erfindung richtet sich auf die Feststellung, dass *Bacillus coagulans* in therapeutischen Zusammensetzungen als ein Probiotikum zum Verhindern oder Bekämpfen mikrobieller Infektionen verwendet werden kann. Wie weiter erörtert wird, können die Zusammensetzungen in vielen Konfigurationen formuliert werden, weil das Bakterium als ein lebensfähiger Organismus präsentiert wird, entweder als eine vegetative Zelle oder als eine Spore, und das Gewebe von Interesse kolonisiert. Die Zellen/Sporen können in Zusammensetzungen, die zur topischen Aufbringung auf ein Gewebe geeignet sind, oder in Suspensionen, wie einem Bad, oder auf flexiblen Materialien, wie Windeln, Verbänden, Tampons und ähnlichen Gegenständen zur Per-

sonenpflege präsentiert werden, welche alle auf das Ziel der topischen Einbringung der Bakterien auf Haut- oder ein Schleimhautmembran-Gewebe gerichtet sind.

[0021] Eine *Bacillus*-Spezies ist für die vorliegende Erfindung wegen der Eigenschaften, welche die Spezies der Gattung *Bacillus* gemeinsam haben, besonders geeignet, insbesondere einschließlich der Fähigkeit zur Bildung von Sporen, welche relativ resistent gegenüber Hitze und anderen Bedingungen sind, was sie für die Aufbewahrung (Lagerhaltbarkeit) in Produktformulierungen ideal macht und für das Überleben und Kolonisieren von Geweben unter Bedingungen hinsichtlich pH, Salzgehalt und dergleichen auf Geweben, welche einer mikrobiellen Infektion unterliegen, ideal sein lässt. Zusätzliche nützliche Eigenschaften schließen nichtpathogene, aerobe, fakultative und heterotrophe ein, was diese Spezies sicher und fähig zur Kolonisierung von Haut- und Schleimhautmembran-Geweben macht.

[0022] Es gibt eine Vielzahl von verschiedenen *Bacillus coagulans*-Spezies, einschließlich, ohne jedoch darauf eingeschränkt zu sein, viele unterschiedliche Stämme, welche über kommerzielle und öffentliche Quellen erhältlich sind, wie der American Tissue Cultur Collection (ATCC). Beispielsweise sind *Bacillus coagulans*-Stämme als ATCC-Zugangsnummern 15949, 8038, 35670, 11369, 23498, 51232, 11014, 31284, 12245, 10545 und 7050 erhältlich.

[0023] Das Wachstum dieser verschiedenen *Bacillus*-Spezies unter Bildung von Zellkulturen, Zellpasten und Sporen-Präparationen ist im Fachgebiet im Allgemeinen gut bekannt. Beispielhafte Kultur- und Präparationsverfahren werden hierin für *Bacillus coagulans* beschrieben und können leicht für die anderen *Bacillus*-Spezies angewandt werden.

[0024] Beispielhafte Verfahren und Zusammensetzungen werden hierin unter Verwendung von *Bacillus coagulans* als einem Probiotikum zur Bekämpfung, Behandlung oder Verringerung mikrobieller Infektionen beschrieben.

[0025] Wie hierin verwendet, bezieht sich "probiotisch" auf Mikroorganismen (z. B. Bakterien, Hefe, Viren und/oder Pilze), welche wenigstens einen Teil der vorübergehenden oder endogenen Flora bilden und somit einen nutzbringenden prophylaktischen und/oder therapeutischen Effekt auf den Wirtsorganismus ausüben. Probiotika sind dem Fachmann auf dem Gebiet im Allgemeinen als sicher bekannt. Obwohl nicht gewünscht wird, durch irgendeinen besonderen Mechanismus gebunden zu sein, nimmt man an, dass die probiotische Aktivität von *Bacillus*-Spezies aus der kompetitiven Inhibition des Wachstums von Pathogenen aufgrund einer überlegenen Kolonisierung, Parasitierung unerwünschter Mikroorganismen, Milchsäureherstellung und/oder anderen extrazellulären Produkten mit antimikrobieller Aktivität, oder Kombinationen davon, zu Stande kommt. Diese Produkte und Aktivitäten von *Bacillus* können synergistisch wirken, um den nutzbringenden probiotischen Effekt hervorzurufen.

A. *Bacillus coagulans*-Zusammensetzungen

[0026] Wir haben gezeigt, dass gereinigter *Bacillus coagulans* als ein Probiotikum zur biologischen Bekämpfung verschiedener mikrobieller Pathogene beispielhaft und bevorzugt ist.

[0027] Weil *B. coagulans* hitzeresistente Sporen bildet, ist er besonders nützlich zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung mikrobieller Infektionen. Topische Formulierungen, welche lebensfähige *B. coagulans*-Sporen in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger einschließen, werden zur Herstellung und Anwendung sowohl präventiver als auch therapeutischer Zusammensetzungen besonders bevorzugt. Der Begriff "topisch" wird im breiten Sinne verwendet, um sowohl epidermale und/oder Haut-Oberflächen als auch Schleimhautoberflächen des Körpers einzuschließen.

[0028] *B. coagulans* ist nicht-pathogen und wird im Allgemeinen als sicher angesehen (d. h. GRAS-Klassifikation durch die "U.S. Food and Drug Administration"). Die grampositiven Stäbchen besitzen einen Zelldurchmesser von mehr als 1,0 µm mit einer variablen Schwellung des Sporangiums, ohne parasporale Kristallbildung.

1. Wachstum von *B. coagulans*

[0029] *B. coagulans* ist aerob und fakultativ, herangezüchtet typischerweise in einem Nährmedium, pH 5,7 bis 6,8, enthaltend bis zu 2% (bezogen auf Gewicht) NaCl, obwohl weder NaCl noch KCl für das Wachstum erfordert werden. Ein pH-Wert von etwa 4 bis etwa 6 stellt das Optimum für die Einleitung des Wachstums aus Spor-

ren dar. Die Aufzucht erfolgt optimal bei etwa 30°C bis etwa 55°C, und die Sporen können eine Pasteurisierung überstehen. Er zeigt ein fakultatives und heterotropes Wachstum durch Verwertung einer Nitrat- oder Sulfatquelle. Zusätzliche Stoffwechsel-Charakteristika von *B. coagulans* sind in der Tabelle 1 zusammengefasst.

[0030] TABELLE 1

Charakteristikum	B. coagulans-Antwort
Katalase-Herstellung	ja
Säure aus D-Glukose	ja
Säure aus L-Arabinose	variabel
Säure aus D-Xylose	variabel
Säure aus D-Mannitol	variabel
Gas aus Glukose	ja
Hydrolyse von Casein	variabel
Hydrolyse von Gelatine	nein
Hydrolyse von Stärke	ja
Verwertung von Citrat	variabel
Verwertung von Propionat	nein
Abbau von Tyrosin	nein
Abbau von Phenylalanin	nein
Reduktion von Nitrat zu Nitrit	variabel
Allatoin oder Urat erforderlich	nein

[0031] *B. coagulans* kann in einer Vielzahl von Medien herangezogen werden, obwohl es festgestellt worden ist, dass bestimmte Wachstumsbedingungen eine Kultur erzeugen, welche einen hohen Spiegel an Sporulation ergibt. Zum Beispiel wird die Sporulation verstärkt, wenn das Kulturmedium 10 Milligramm je Liter an Mangansulfat einschließt, wodurch ein Verhältnis von Sporen zu vegetativen Zellen von etwa 80:20 erhalten wird. Darüber hinaus erzeugen bestimmte Wachstumsbedingungen eine Bakterienspore, welche ein Spektrum an metabolischen Enzymen enthält, die für die vorliegende Erfindung, d.h. die Bekämpfung von mikrobiellen Infektionen, besonders geeignet sind. Obwohl durch diese besonderen Wachstumsbedingungen erzeugte Sporen bevorzugt werden, sind Sporen, hergestellt durch beliebige kompatible Wachstumsbedingungen, zur Herstellung eines in der vorliegenden Erfindung nützlichen *B. coagulans* geeignet.

[0032] Geeignete Medien für das Wachstum von *B. coagulans* schließen Nutristart 701, PDB (Kartoffel-Dextrose-Nährmedium), TSB (tryptisches Soja-Nährmedium) und NB (Nährstoff-Medium) ein, welche sämtlich gut bekannt und von einer Vielzahl von Quellen erhältlich sind. Medienergänzungen, enthaltend enzymatische Verdaus von Geflügel- und Fischgewebe, und enthaltend Speisehefe, sind besonders bevorzugt. Eine bevorzugte Ergänzung erzeugt ein Medium, das mindestens 60% Protein und etwa 20% komplexe Kohlenhydrate und 6% Lipide enthält. Medien können von einer Vielzahl kommerzieller Quellen erhalten werden, insbesondere DIFCO (Detroit, MI), Oxoid (Newark, NJ), BBL (Cockeysville, MD) und Troy Biologicals (Troy, MI).

[0033] Ein bevorzugtes Verfahren zur Herstellung von *B. coagulans* ist wie folgend beschaffen. Das Bakterium *B. coagulans* Hammer wurde angeimpft und in Nährmedium, welches 5 g Pepton, 3 g Fleischextrakt, 10–30 mg MnSO₄ und 1000 ml destilliertes Wasser enthält, eingestellt auf einen pH-Wert von 7,0, unter Verwendung eines standardmäßigen Airlift-Fermentationsgefäßes bei 30°C wachsen gelassen. Der für eine Sporulation akzeptable Bereich von MnSO₄ beläuft sich auf 1 mg/l bis 1 g/l. Die vegetativen Zellen können sich bis zu 65°C aktiv reproduzieren, und die Sporen sind bis zu 90°C stabil. Nach der Fermentation werden die *B. coagulans* Hammer-Bakterienzellen unter Anwendung von Standardverfahren (z. B. Filtration, Zentrifugation) abgesammelt, und die gesammelten Zellen und Sporen können lyophilisiert, sprühgetrocknet, luftgetrocknet oder eingefroren werden. Wie hierin beschrieben, kann der Überstand aus der Zellkultur abgesammelt und als ein von *B. coagulans* sezerniertes extrazelluläres Mittel verwendet werden, welches in einer Formulierung dieser Erfindung brauchbare antimikrobielle Aktivität besitzt.

[0034] Ein typischer Ertrag aus der oben stehenden Kultur beträgt etwa 100 bis 150 Milliarden Zellen/Sporen pro Gramm vor der Trocknung. Sporen behalten mindestens 90% Lebensfähigkeit nach dem Trocknen bei Lagerung bei Raumtemperatur bis zu sieben Jahre lang bei, und somit beläuft sich die effektive Haltbarkeitsdauer einer Zusammensetzung, die Sporen von *B. coagulans* Hammer enthält, bei Raumtemperatur etwa auf 10 Jahre.

2. Extrazelluläre Produkte mit antimikrobieller Aktivität

[0035] *B. coagulans*-Kulturen enthalten sezernierte Produkte, welche antimikrobielle Aktivität aufweisen. Diese sezernierten Produkte sind nützlich in therapeutischen Zusammensetzungen gemäß der vorliegenden Erfindung. Zellkulturen werden geerntet, wie obenstehend beschrieben, und die Kulturüberstände werden durch Filtration oder Zentrifugation oder beides gesammelt, und der resultierende Überstand enthält antimikrobielle Aktivität, welche in einer therapeutischen Zusammensetzung nützlich ist. Die Herstellung von extrazellulärem Produkt von *B. coagulans* ist in den Beispielen beschrieben.

3. Quellen von *B. coagulans*

[0036] Gereinigte *B. coagulans*-Bakterien sind von der American Type Culture Collection (Rockville, MD) unter Verwendung der folgenden Zugangsnummern erhältlich: *B. coagulans* Hammer NRS T27 (ATCC# 11014), *B. coagulans* Hammer Stamm C (ATCC# 11369), *B. coagulans* Hammer (ATCC# 31284) und *B. coagulans* Hammer NCA 4259 (ATCC# 15949). Gereinigte *B. coagulans*-Bakterien sind auch von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (Braunschweig, Deutschland) unter Verwendung der folgenden Zugangsnummern erhältlich: *B. coagulans* Hammer 1915^{AL} (DSM# 2356), *B. coagulans* Hammer 1915^{AL} (DSM# 2383, entspricht ATCC# 11014), *B. coagulans* Hammer^{AL} (DSM# 2384, entspricht ATCC# 11369), und *B. coagulans* Hammer^{AL} (DSM# 2385, entspricht ATCC# 15949). *B. coagulans*-Bakterium kann auch von kommerziellen Lieferanten, wie Sabisna Corporation (Piscataway, NJ) erhalten werden.

[0037] Diese *B. coagulans*-Stämme und ihre Wachstumsanforderungen sind früher beschrieben worden (Baker et al., Can. J. Microbiol. 6: 557–563, 1960; Blumenstock, "Bacillus coagulans Hammer 1915 und andere thermophile oder mesophile, säuretolerante Bacillus-Arten – eine taxonomische Untersuchung", Doktorarbeit, Univ. Göttingen 1984; Nakamura et al., Int. J. Syst. Bacteriol., 38: 63–73, 1988). Stämme von *B. coagulans* können auch aus natürlichen Quellen (z. B. wärmebehandelte Bodenproben) unter Einsatz gut bekannter Verfahrensweisen isoliert werden (Berger's Manual of Systemic Bacteriology, Band 2, S. 1117, Hrsg.: Sneath, P. H. A., et al., Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1986). Die hierin beschriebenen Ergebnisse wurden mit *B. coagulans* Hammer, erhalten von der American Type Culture Collection (ATCC# 31284), welcher wie hierin beschrieben wachsen gelassen und in lyophilisierten Aliquots bei –20°C aufbewahrt wurde, erhalten. Alle *B. coagulans*, welche die beschriebenen Eigenschaften aufzeigen, werden hierin als Äquivalente dieses Stammes betrachtet.

[0038] *B. coagulans* war früher als ein *Lactobacillus* in Hinsicht auf die Tatsache fehlcharakterisiert worden, dass dieses Bakterium, wie ursprünglich beschrieben, als *Lactobacillus* sporogenes bezeichnet wurde (siehe Nakamura et al., obenstehend zitiert). Allerdings war dies inkorrekt, da das Bakterium dieser Erfindung Sporen herstellt und über den Stoffwechsel L(+)-Milchsäure ausscheidet, wobei diese beiden Aspekte Schlüsseleigenschaften für seine Anwendbarkeit bereitstellen. Stattdessen erforderten diese Entwicklungsmäßigen und metabolischen Aspekte, dass das Bakterium als ein Milchsäure-Bacillus klassifiziert wird, und daher wurde es umbenannt.

4. Probiotische antimikrobielle Aktivität von *B. coagulans*

[0039] Pathogene Bakterien, welche durch *B. coagulans*-Aktivität inhibiert werden, schließen *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *S. spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* (entero-hämorrhagische Spezies), *Clostridium perfringens*, *C. difficile*, *Gardnerella vaginalis*, *Propionibacterium acnes*, *Aeromonas hydrophilia*, *Aspergillus*-Spezies, *Proteus*-Spezies und *Klebsiella*-Spezies ein. Pathogene Hefe und andere Pilze, welche durch *B. coagulans*-Aktivität inhibiert werden, schließen *Candida albicans*, *C. tropicalis* und *Trichophyton mentagrophytes*, *T. interdigitale*, *T. rubrum* und *T. yaoundei* ein. *B. coagulans*-Aktivität inhibiert auch *Herpes simplex*-Viren I und II. Diese Pathogene können Windeleukzem, orale, genitale, cervicale und vaginale Hefe-Infektionen, toxisches Schock-Syndrom, chronische mukokutane Candidiasis, Dermatophytose, bakterielle Vaginosis, *Tinea*-Pilzinfektionen, wie Ringelflechte, Fusspilz und Mykose der Leistenbeuge, Kopfhaut- und Nagel-Pilzinfektionen, oberflächliche Hauterkrankungen wie Erysipelas, Infektionen offener Wunden, Akne, Abszess, Eiterbeulen, Ekzem, Dermatitis, Kontakt-Dermatitis, Hypersensitinitis, Kontaktläsionen, Dekubitus, diabetische Schäden, diverse opportunistische Infektionen, orale und genitale virale Schäden und ähnliche Zustände, wie sie im Fachgebiet gut bekannt sind, verursachen. Deshalb ist die topische Anwendung von Zusammensetzungen, welche *B. coagulans*-Wirkstoffe enthalten, welche diese Pathogene inhibieren, nützlich bei der Verhinderung oder Behandlung dieser Befunde.

[0040] Die antimikrobielle Aktivität einer therapeutischen Zusammensetzung dieser Erfindung gegen viele der

oben stehend beschriebenen Pathogene wird in den Beispielen beschrieben. Darüber hinaus wird in Betracht gezogen, dass die vorliegenden therapeutischen Zusammensetzungen, bei Formulierung zur Verabreichung an das relevante Gewebe, verwendet werden können, um Infektionen wie nachstehend beschrieben zu behandeln:

infizierende Mikrobe	Befund
Trichphyton-Spezies	Fussflechte, Fusspilz
T. mentagrophytes	Fussflechte, Fusspilz
T. interdigitale	Tinea versicolor, Ringelflechte
T. mentagrophytes	Tinea barbae, Gesicht/Nacken-Entzündung
T. mentagrophytes	Dermatophytose
T. rubrum	Kopfflechte
T. yaoundei	
Candida-S pezies	systemische Candidiasis
C. albicans	chronische mukokutane Candidiasis, Myositis und Thymom
C. albicans	Hefe- und Myzel-Phasen-Infektion
C. tropicalis	Mund-Soor
Pseudomonas aeruginosa	cervikale Hefeinfektion
Staphylococcus aureus	opportunistische Hautinfektionen, Harntrakt-Infektionen, Infektionen nach chirurgischen Eingriffen
Staphylococcus epidermidis	opportunistische Hautinfektionen, Abszess, Eiterbeulen, Wundinfektionen, Dermatitis
Streptococcus pyogenes	opportunistische Hautinfektionen
Streptococcus spp.	opportunistische Hautinfektionen, Impetigo, Erysipelas
	opportunistische Hautinfektionen, Wundinfektionen
Gardnerella vaginalis	bakterielle Vaginosis
Propionibacterium acnes	Akne
Clostridium perfringens	Infektionen von offenen Wunden
Herpes Simplex-Virus I oder II	Fieberbläschen, genitale Herpes-Schäden

[0041] Andere Haut- und Schleimhaut-Membran infizierende Mikroben und Dermatophyten können ebenfalls unter Verwendung der vorliegenden Zusammensetzungen und Verfahren behandelt werden.

B. Fructo-Oligosaccharide

[0042] Fructo-Oligosaccharide (F'S) sind eine Klasse von Zuckern, welche im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung besonders nützlich sind. F'S sind eine einfache Klasse von natürlichen Kohlehydraten, welche Polymere aus Fructose und Glukose umfassen. FOS sind nicht-verdaubare Fructose-Polymere, die fast ausschließlich von den indigenen Bifidobacteria und Lactobacillus im Darmtrakt verwertet werden und gleichermaßen von Bacillus verwertet werden können. Schädliche Bakterien, wie Clostridium, Staphylococcus, Salmonella und E. Coli können FOS nicht metabolisieren, und daher ermöglicht die Verwendung von FOS in Kombination mit Bacillus, dass die nutzbringenden und probiotischen Bakterien wachsen und jedwede unerwünschten oder pathogenen Bakterien ersetzen.

[0043] Die Verwendung von FOS in therapeutischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung sieht einen synergistischen Effekt vor, wodurch die Wirksamkeit der Bacillus-enthaltenden Zusammensetzung dieser Erfindung erhöht wird. Diese Synergie wird zum mindesten durch Steigerung der Fähigkeit des Bakteriums zum Wachstum durch Erhöhung der Nahrungsergänzung für Bacillus, welche präferentiell eine Selektion für das Wachstum von Bacillus gegenüber vielen anderen Bakterien in dem infizierten Gewebe vornimmt, deutlich. So mit ermöglicht die Gegenwart von FOS in der Formulierung eine effektivere mikrobielle Inhibition durch Steigern der Fähigkeit von Bacillus zum Wachsen und dadurch zum Vorsehen seines Nutzens.

[0044] FOS kann aus einer Vielzahl von natürlichen Quellen erhalten werden, einschließlich kommerziellen Herstellern. Als ein aus natürlichen Quellen isoliertes Produkt können die Komponenten in breitem Maße variieren und dennoch das vorteilhafte Agens, nämlich FOS, vorsehen. FOS weist typischerweise eine Polymer-

kettenänge von etwa 4 bis 200 Zuckereinheiten auf, wobei die höheren Längen bevorzugt werden. Zum Beispiel kann der Grad der Reinheit in weitem Maße variieren, so lange funktionelles FOS in der Formulierung vorhanden ist. Bevorzugte FOS-Formulierungen enthalten mindestens 50 Gew.-% an Fructo-Oligosacchariden, verglichen zu einfachen (Mono- oder Disaccharid)-Zuckern, wie Glukose, Fruktose oder Saccharose, vorzugsweise mindestens 80 Gew.-% Fructo-Oligosaccharide, weiter bevorzugt mindestens 90 Gew.-% und am stärksten bevorzugt mindestens 95 Gew.-% Fructo-Oligosaccharide. Zuckergehalt und -zusammensetzung können durch ein beliebiges einer Vielzahl von komplexen analytischen Kohlehydrat-Nachweisverfahren bestimmt werden, wie es allgemein bekannt ist.

[0045] Bevorzugte Quellen von FOS schließen Inulin, Frutafit IQ (TM) von Imperial Suiker Unie (Sugar Land, Texas); NutraFlora (TM) von Americal Ingredients, Inc., (Anaheim, CA), Fabrchem, Inc., (Fairfield, CT), und Fruitrimfat 'Replacers and Sweeteners' (Emeryville, CA) ein.

C. Therapeutische Zusammensetzungen

[0046] Zusammensetzungen dieser Erfindung, welche zur Verwendung bei der Verhinderung, Behandlung oder Bekämpfung mikrobieller Infektionen geeignet sind, umfassen einen aktiven Bestandteil, bei welchem es sich um *Bacillus coagulans*, *Bacillus coagulans*-Sporen, extrazelluläre antimikrobielle oder antibiotische Metabolite von *B. coagulans* oder Kombinationen davon in verschiedenen Formulierungen handelt.

[0047] Die aktiven *Bacillus*-Bestandteile machen etwa 0,1 Gew.-% bis etwa 50 Gew.-% der Endzusammensetzung, vorzugsweise 1 Gew.-% bis 10 Gew.-%, in einer Formulierung, die zur topischen Verabreichung geeignet ist, aus.

[0048] Die Formulierung für eine therapeutische Zusammensetzung dieser Erfindung kann andere probiotische Agentien oder Nährstoffe zur Förderung der Sporenenkeimung und/oder des *Bacillus*-Wachstums einschließen. Die Zusammensetzungen können auch bekannte antimikrobielle Mittel, bekannte antivirale Mittel, bekannte Anti-Pilz-Mittel einschließen, welche alle mit der Aufrechterhaltung der Lebensfähigkeit des aktiven *Bacillus*-Agens kompatibel sein müssen, wenn *Bacillus*-Organismen oder -Sporen das aktive Agens sind. Die anderen Mittel in den Zusammensetzungen können entweder Synergisten oder aktive Agentien sein. Vorzugsweise sind die bekannten antimikrobiellen, antiviralen und/oder Anti-Pilz-Mittel probiotische Agentien, die mit *Bacillus* kompatibel sind. Die Zusammensetzungen können auch bekannte Antioxidationsmittel, Puffermittel, Sonnenschutzmittel und kosmetische Mittel, einschließlich Färbemitteln, Geruchsstoffen, Ölen, ätherischen Ölen, Gleitmitteln, Feuchtmachern oder Trocknungsmitteln, einschließen. Antioxidationsmittel, wie Vitamin E, können eingeschlossen werden. Sonnenschutzmittel, wie para-Aminobenzoësäure, können eingeschlossen sein. Gleitmittel, wie synthetisches oder natürliches Bienenwachs, können ebenfalls eingeschlossen sein. Verdickungsmittel, wie Polyvinylpyrrolidon, Polyethylenglykol oder Carboxymethylcellulose, können den Zusammensetzungen zugesetzt werden.

[0049] Geruchsstoffe und ätherische Öle sind besonders geeignet für die Zusammensetzungen, welche in Produkten und Verfahren für die Personhygiene verwendet werden; und können Meersalze, Kräuter oder Kräuterextrakte, Duftstofföle aus einer großen Vielzahl von Pflanzen oder Tieren, und Geruchsstoffe aus einer großen Vielzahl von Pflanzen oder Tieren einschließen, wie sie sämtlich allgemein bekannt sind.

[0050] Bevorzugte Geruchsstoffe, nützlich in einer Zusammensetzung dieser Erfindung, schließen Afrikanisches Veilchen, Weihrauch & Myrrhe, Lavendel, Vanille, Gardenia, Geißblatt, Sandelholz, Moschus, Jasmin, Lotus, Orangenblüte, Patchouli, Heidekraut, Magnolie, Amber, Rose und ähnliche Geruchsstoffe ein.

[0051] Bevorzugte Öle, einschließlich ätherischen oder Duftstoffölen, schließen Mandel, Aloe, Bernstein bzw. Amber, Apfel, Aprikose, Wachsgagel, Benzion, Kaktusblüte, Gartennelke, Carrageenan, Zedernholz, Zimt, Gewürznelke, Kokosnuss, Zeder, Copal, Emu, Eukalyptus, Franipani, Weihrauch & Myrrhe, Gardenia, Grapefruit, Heidekraut, Kräuter, Geißblatt, Jasmin, Jojoba, Kelp, Lavendel, Zitrone, Flieder, Lotus, Magnolie, Maulbeere, Moschus, Myrrhe, Narzisse, Orangenblüte, Patchouli, Pfirsich, Pinon Pine, Plumeria, Rose, Rosmarin, Safflor, Salbei, Sandelholz, Spirulina, Erdbeere, Vanille, Veilchen, Wisteria und ähnliche Öle ein. Ein besonders bevorzugtes Öl zur Verwendung in einer Zusammensetzung der Erfindung ist Emu-Öl, welches typischerweise in einer Menge von etwa 1 Gew.-% bis 75 Gew.-% verwendet wird.

[0052] Darüber hinaus können die Geruchsstoffe und ätherischen Öle in verschiedenen Badesalz- und Badesoifen-Zusammensetzungen bereitgestellt werden. Salze und Seifen sind ebenfalls im Fachgebiet gut bekannt und können Meersalze, Wüstensalze, Mineralsalze, Natriumsesquicarbonat, Magnesiumsulfat und der-

artige üblicherweise verwendeten Badesalze einschließen.

[0053] Geruchsstoffe, Öle und Salze sind im Fachgebiet gut bekannt, können aus einer Vielzahl von natürlichen und kommerziellen Quellen erhalten werden und werden nicht als die Erfindung einschränkend angesehen. Exemplarische kommerzielle Quellen schließen Innovative Body Science (Carlsbad, CA), Scents of Paradise SunBurstd Technology, Inc., (Salem, OR), Intercontinental Fragances, Inc., (Houston, TX), Scentastics, Inc., (Ft. Lauderdale, FL), Michael Giordano International, Inc., (North Miami, FL), ein.

[0054] In den vorliegenden Zusammensetzungen verwendete Chemikalien können aus einer Vielzahl von kommerziellen Quellen erhalten werden, einschließlich Spectrum Quality Products, Inc. (Gardena, CA), Seltzer Chemicals, Inc., (Carlsbad, CA) und Jarchem Industries, Inc., (Newark, NJ).

[0055] Die aktiven Agentien werden mit einem Träger kombiniert, der mit der Haut, Membran oder Schleimhautgewebe eines Menschen oder Tiers physiologisch kompatibel ist, an welches/n er topisch verabreicht wird. Das heißt, der Träger ist vorzugsweise im wesentlichen inaktiv mit Ausnahme der oberflächenaktiven Eigenschaften, die bei der Herstellung einer Suspension der aktiven Bestandteile genutzt werden. Die Zusammensetzungen können andere physiologisch aktive Bestandteile einschließen, welche die Wirksamkeit der aktiven Agentien in der Zusammensetzung nicht beeinträchtigen.

[0056] Ein typische therapeutische Zusammensetzung wird in einem Gramm Dosierungs-Formulierung 10^3 bis 10^2 , vorzugsweise 2×10^5 bis 10^{10} Kolonie-bildende Einheiten (CFU) an lebensfähigen Bacillus-Bakterien (d.h. vegetative Zellen) oder Bakteriensporen enthalten. In einer bevorzugten Ausführungsform kann eine therapeutische Ausführungsform von etwa 10 Milligramm (mg) bis ein Gramm Fructo-Oligosaccharide einschließen. Die Formulierung kann bezüglich des Gewichts unter Verwendung eines beliebigen einer Vielzahl von Trägern und/oder Bindemitteln vervollständigt werden. Ein bevorzugter Träger ist mikrokristalline Cellulose (MCC), welche in einer ausreichenden Menge zugesetzt wird, um das Dosierungs-Gesamtgewicht von einem Gramm zu vervollständigen.

[0057] Besonders bevorzugte Formulierungen für eine therapeutische Zusammensetzung dieser Erfindung sind in den Beispielen beschrieben.

[0058] Träger können trockene Materialien auf Feststoffbasis für Formulierungen in pulverisierter Form sein, und können Materialien auf Flüssigkeits- oder Gel-Basis für Formulierungen in Flüssigkeits- oder Gel-Formen sein, wobei diese Formen teilweise von den Wegen oder Arten der Verabreichung abhängen.

[0059] Typische Träger für trockene Formulierungen schließen Trehalose, Maltodextrin, Reismehl, mikrokristalline Cellulose (MCC), Magnesiumstearat, Inositol, FOS, Gluco-Oligosaccharide (GOS), Dextrose, Saccharose, Talk und derartige Träger ein.

[0060] Wo die Zusammensetzung trocken ist und eingedampfte Öle, welche eine Neigung der Zusammensetzung zur Verklumpung hervorrufen (Adhäsion der Komponenten-Sporen, Salze, Pulver und Öle), enthält, wird es bevorzugt, trockene Füllstoffe einzuschließen, welche die Komponenten verteilen und eine Verklumpung verhindern. Beispielhafte Anti-Verklumpungs-Mittel schließen MCC, Talk, Diatomeen-Erde, amorphes Siliziumdioxid und dergleichen ein, typischerweise zugesetzt in einer Menge von etwa 1 bis 95 Gew.-%.

[0061] Geeignete Träger auf Flüssigkeits- oder Gel-Basis sind im Fachgebiet gut bekannt, wie Wasser und physiologische Salzlösungen, Harnstoff, Alkohole und Glykole, wie Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol, Ethylenglykol und Propylenglykol und dergleichen. Vorzugsweise sind Träger auf Wasserbasis von etwa neutralem pH.

[0062] Geeignete Träger schließen wässrige und ölartige Träger, wie zum Beispiel weißes Petrolatum, Isopropylmyristat, Lanolin oder Lanolin-Alkohole, Mineralöl, Duftstoff- oder ätherisches Öl, Nasturtiumextrakt-Öl, Sorbitanmonooleat, Propylenglykol, Cetylstearylalkohol (gemeinsam oder in verschiedenen Kombinationen), Hydroxypropylcellulose (MG = 100 000 bis 1 000 000), Detergentien (z. B. Polyoxystearat oder Natriumlaurylsulfat) ein und werden mit Wasser vermischt, um eine Lotion, ein Gel, eine Creme oder eine halbfeste Zusammensetzung zu bilden. Andere geeignete Träger umfassen Wasser-in-Öl- oder Öl-in-Wasser-Emulsionen und Mischungen von Emulgatoren und Weichmachern mit Lösungsmitteln, wie Saccharosestearat, Saccharoseco-coat, Saccharosedistearat, Mineralöl, Propylenglykol, 2-Ethyl-1,3-hexandiol, Polyoxypropyl-15-stearylether und Wasser. Zum Beispiel sind Emulsionen, welche Wasser, Glycerolstearat, Glycerin, Mineralöl, synthetisches Spermaceti, Cetylalkohol, Butylparaben, Propylparaben und Methylparaben enthalten, im Handel erhält-

lich. Konservierungsstoffe können ebenfalls in den Träger eingeschlossen werden, einschließlich Methylparaben, Propylparaben, Benzylalkohol und Ethyldiamintetraacetat-Salzen. Gut bekannte Geschmackstoffe und/oder Färbemittel können ebenfalls in dem Träger eingeschlossen sein. Die Zusammensetzung kann auch einen Weichmacher, wie Glycerol oder Polyethylenglykol (MG = 800 bis 20000) einschließen. Die Zusammensetzung des Trägers kann variiert werden, so lange sie die pharmakologische Aktivität der aktiven Bestandteile oder die Lebensfähigkeit der *Bacillus*-Zellen oder -Sporen nicht signifikant stört.

[0063] Eine therapeutische Zusammensetzung kann formuliert werden, um für die Anwendung auf einer Vielzahl von Wegen geeignet zu sein, zum Beispiel in einer Creme für die Haut (z. B. Ringelflechte oder Fußpilz), in einer Spülung für den Mund (z. B. Mund-Soor), in einer Dusche zur vaginalen Anwendung (z. B. Vaginitis), in einem Pulver zum Reiben (z. B. Dermatitis), in einer Flüssigkeit für Zehennägel (z. B. *Tinea pedis*), in einem Badesalz oder Badepulver zur Behandlung von Infektionen des genitalen, Fuß- oder sonstigen Gewebes in einem Bad, und dergleichen, wie es ausführlicher in den Beispielen beschrieben wird. Andere Formulierungen werden dem Fachmann auf dem Gebiet ohne weiteres offensichtlich sein.

[0064] D. Therapeutische Verfahren zur Behandlung von mikrobiellen Infektionen Die vorliegende Erfindung betrachtet ein Verfahren zur Behandlung, Verminderung oder Bekämpfung von mikrobiellen Infektionen in einer Vielzahl von Haut- und Schleimhautmembran-Geweben unter Verwendung einer therapeutischen Zusammensetzung oder eines therapeutischen Erzeugnisartikels dieser Erfindung. Optimalerweise reduzieren die Zusammensetzungen effektiv den Hefe-, Pilz- und/oder Viren-Titer in dem behandelten Individuum, insbesondere an der Stelle der Verabreichung der topischen Zusammensetzung. Zum Beispiel wird der Titer an pathogenen Mikroben in Läsionen bei topischer Behandlung von betroffenen Flächen der Haut oder Schleimhautmembran signifikant vermindert. Die offebarten Verfahren zur Behandlung verringern auch Symptome von pathogener mikrobieller Infektion (z. B. mit infizierten oder mikrobiell verursachten Läsionen assoziierte Schmerzen) und fördern eine raschere Heilung, als ohne *Bacillus*-Behandlung beobachtet wird.

[0065] Das Verfahren der vorliegenden Erfindung schließt die Verabreichung einer Zusammensetzung, enthaltend den aktiven *Bacillus*-Bestandteil, an einen Menschen oder ein Tier zur Behandlung oder Verhinderung einer mikrobiellen, d.h. Bakterien-, Hefe-, Pilz- oder Viren-Infektion, ein. Die Verabreichung erfolgt vorzugsweise an die Haut oder eine Schleimhautmembran unter Verwendung von einer Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, einer halbfesten Formulierung (z. B. eines Suppositoriums) oder eines Erzeugnisartikels, welche alle formuliert sind, um eine therapeutische Zusammensetzung dieser Erfindung zu enthalten, unter Anwendung von im Fachgebiet gut bekannten Verfahren.

[0066] Die Anwendung der Zusammensetzungen, enthaltend das aktive *Bacillus*-Agens, effektiv zur Verhinderung oder Behandlung einer mikrobiellen Infektion, besteht im Allgemeinen aus ein bis zehn Anwendungen von 10 mg bis 10 g einer Zusammensetzung pro Anwendung während einem Tag bis zu einem Monat. Die Anwendungen erfolgen im Allgemeinen einmal alle zwölf Stunden und bis zu einmal alle vier Stunden. Vorzugsweise sind zwei bis vier Anwendungen der Zusammensetzung pro Tag, von etwa 0,1 g bis 5 g pro Anwendung, während einem bis sieben Tagen ausreichend, um eine mikrobielle Infektion zu verhindern oder zu behandeln. Für topische Anwendungen werden die Zusammensetzungen vorzugsweise täglich auf die Läsionen aufgebracht, so bald Symptome (z. B. Schmerz, Schwellung oder Entzündung) nachgewiesen werden. Selbstverständlich wird die spezifische Route, Dosierung und Zeitgebung der Anwendung zum Teil von dem besonderen behandelten Pathogen und/oder Befund und dem Ausmaß des Befundes abhängen.

[0067] Ein bevorzugtes Verfahren beinhaltet die Anwendung von 10^3 bis 10^{12} lebensfähigen Bakterien oder Sporen pro Tag, vorzugsweise 10^5 bis 10^{10} und weiter bevorzugt von etwa 5×10^8 bis 10^9 lebensfähigen Bakterien oder Sporen pro Tag. Darüber hinaus umfasst ein bevorzugtes Verfahren gegebenenfalls die Anwendung einer Zusammensetzung, welche zusätzlich 10 mg bis 20 g Fructo-Oligosaccharid pro Tag, vorzugsweise etwa 50 mg–10 g und weiter bevorzugt etwa 150 mg bis 5 g Fructo-Oligosaccharid pro Tag enthält, um das Wachstum der probiotischen *Bacillus*-Spezies gegenüber dem Wachstum des Pathogens zu fördern.

[0068] Im Falle eines therapeutischen Bades, sieht eine Ausführungsform die Zugabe und Beimischung einer Zusammensetzung von trockenen *Bacillus*-Sporen zu einem vorbereiteten Bad vor, welches Seifen, Öle, Geruchsstoffe, Salze und dergleichen Badekomponenten enthalten kann, gefolgt vom Kontaktieren des infizierten Gewebes mit dem Badewasser, wie beim "Nehmen eines Bades" im herkömmlichen Sinne. In dieser Ausführungsform können die therapeutischen probiotischen Sporen in einem System mit Gebrauchsanweisungen, wie hierin beschrieben, verpackt werden. Ein typisches Bad wird 10^8 bis 10^{10} CFU Bakterien-Zellen oder Sporen, vorzugsweise 1×10^9 bis 5×10^9 CFU an Zellen oder Sporen pro Bad bereitstellen.

[0069] Spezifische Verfahren zur Behandlung einer mikrobiellen Infektion werden in den Beispielen beschrieben und schließen Windeleczem, vaginale Hefeinfektion, opportunistische Hautinfektion, Tinea-Pilzinfektion, oberflächliche Hautinfektion, Akne, Fieberbläschen, genitale Herpes-Läsionen, Fusspilz und dergleichen ein.

[0070] Außer es ist anders definiert, besitzen alle hierin verwendeten wissenschaftlichen und technischen Begriffe die gleiche Bedeutung, wie sie vom Fachmann im relevanten Fachgebiet üblicherweise verstanden wird. Außer es wird anderweitig erwähnt, sind die hierin angewandten oder betrachteten Techniken Standardmethoden, die dem Durchschnittsfachmann auf dem Gebiet gut bekannt sind. Die Beispiele von Ausführungsformen dienen nur der Veranschaulichung.

E. Therapeutische Systeme zur Behandlung von mikrobiellen Infektionen (nicht Teil der beanspruchten Erfindung)

[0071] Die Erfindung betrachtet ferner ein therapeutisches System zur Behandlung, Verringerung und/oder Bekämpfung von mikrobiellen Infektionen, umfassend einen Behälter, umfassend ein Etikett und eine therapeutische Zusammensetzung gemäß der vorliegenden Erfindung, wobei das Etikett Anweisungen für den Gebrauch der Zusammensetzung zur Behandlung der Infektion umfasst.

[0072] Typischerweise liegt das System in der Form einer Packung, enthaltend eine therapeutische Zusammensetzung dieser Erfindung, oder in Kombination mit Verpackungsmaterial vor. Das Verpackungsmaterial schließt ein Etikett oder Anweisungen zum Gebrauch der Komponenten der Packung ein. Die Anweisungen geben die betrachtete Anwendung der verpackten Komponenten, wie hierin beschrieben, für die Verfahren oder Zusammensetzungen der Erfindung an.

[0073] Zum Beispiel kann ein System eine oder mehrere Einzeldosierungen einer therapeutischen Zusammensetzung gemäß der Erfindung umfassen. Alternativ dazu kann das System Schüttmengen einer therapeutischen Zusammensetzung enthalten. Das Etikett enthält Anweisungen zum Gebrauch der therapeutischen Zusammensetzung entweder in Einzeldosis- oder in Schütt-Formen, wie angemessen, und kann Informationen bezüglich der Lagerung der Zusammensetzung, Krankheitsindikationen, Dosierungen, Wegen und Arten der Verabreichung und ähnliche Information einschließen.

[0074] Abhängig von der jeweiligen in Betracht gezogenen Anwendung, kann das System weiterhin gegebenenfalls, entweder kombiniert oder in separaten Packungen, eine oder mehrere der folgenden Komponenten enthalten: FOS, Badesalze, Seifen und Öle (zur Verwendung in einem Bad) und ähnliche Komponenten. Ein besonders bevorzugtes System umfasst Einheitsdosis-Packungen von Bacillus-Sporen zur Verwendung in Kombination mit einem herkömmlichen Badesalz- oder Badeseifen-Produkt, zusammen mit Anweisungen zum Gebrauch des Bacillus-Probiotikums in einem therapeutischen Verfahren.

F. Erzeugnisartikel

[0075] Die Erfindung zieht auch verschiedene Erzeugnisartikel in Betracht, welche die nützlichen Aspekte der vorliegenden Erfindung durch Kombination der therapeutischen Zusammensetzung mit verschiedenen medizinischen oder persönlichen Hygienevorrichtungen anwenden, so dass mikrobielle Infektionen, assoziiert mit der Verwendung dieser Vorrichtungen, verringert oder verhindert werden. Die Erfindung umfasst Zusammensetzungen von aktivem B. coagulans-Agens, aufgetragen auf eine feste Oberfläche oder imprägniert in eine feste Matrix einer beliebigen Vorrichtung oder eines beliebigen Erzeugnisartikels, welcher) für einen Kontakt mit Haut oder einer Schleimhautmembran beabsichtigt ist. Vorzugsweise ist die feste Oberfläche ein flexibler Gegenstand, welcher auf der Haut oder Schleimhautmembran getragen oder über selbige gewischt werden kann. Wenn der flexible Gegenstand, der den Bacillus und/oder den isolierten Wirkstoff trägt, auf der Haut getragen werden soll, schließt er weiter bevorzugt eine Einrichtung zum Anbringen des Gegenstands an der Haut ein, wie beispielsweise eine Klebstoffschicht, ineinandergreifenden Klettverschluß(Velcro®)-Verbinder oder andere gut bekannte Anheftungs-Einrichtungen, wie Bänder, Schnappverschlüsse, Gummis, Knöpfe und dergleichen.

[0076] Spezifische Ausführungsformen, welche aktives B. coagulans-Agens einschließen, sind Windeln, Einwegtücher (z. B. Baby-Wischtücher oder Damenhygiene-Einwegtücher), Tampons, Hautpflaster, Klebeband, absorptionsfähige Einlagen, Kleidungsgegenstände (Unterwäsche, Schlafkleidung), Badehandtücher, Waschlappen, und dergleichen. Der Gegenstand kann aus faserartigen gewebten, gestrickten oder Nonwoven-Materialien, okklusiven oder nicht-okklusiven Folien oder Membranen, synthetischen Polymerfasern, -folien, -membranen und Schäumen (z. B. Nylon, Polytetrafluorethylen (PTFE, wie Teflon® oder Gor-Tex®), Polystyrol,

Polycarbonat, Polyvinylchlorid und Polysulfon) hergestellt sein. Alle diese Formen sind im Fachgebiet gut bekannt und schließen beispielsweise gestrickte oder gewebte Textilien, Nonwoven-Textilien, wie Filz und Vlies, Faserbällchen aus Baumwolle, Rayon, Zellulose oder Kunstfasern und gleichartige Materialien ein.

[0077] Der isolierte *B. coagulans*-Wirkstoff kann unter Anwendung eines beliebigen aus einer Vielzahl bekannter Verfahren auf die feste Oberfläche aufgetragen werden, einschließlich zum Beispiel Aufbringen eines Pulvers, Sprühtrocknen des Probiotikums auf das Material oder Einweichen des Materials in einer Lösung, welche das Probiotikum enthält, und danach Anwenden des befeuchteten Materials oder Trocknung des Materials vor dem Anwenden. Poröses Material kann den Bacillus und/oder das isolierte aktive Agens in den Poren oder Zwischenräumen des festen Materials enthalten. Der Bacillus und/oder das isolierte aktive Agens können durch Adhäsion angeheftet werden, wie durch Anheftung an eine Klebstoffsicht, welche dann (z. B. in einem Verband oder Hautpflaster) auf die Haut aufgebracht wird. Der Bacillus und/oder das isolierte aktive Agens können während des Herstellungsprozesses des flexiblen Gegenstandes in das feste Material imprägniert werden (z. B. zu einer synthetischen Zusammensetzung vor oder während des Polymerisationsverfahrens zugesetzt werden). Die Druck- und Wärmebeständigkeit von Bacillus-Sporen macht sie besonders geeignet für die Einbringung in das Material während der Herstellung. Ein beliebiges der festen Materialien, welche Bacillus und/oder das isolierte aktive Agens tragen, kann individuell oder in Gruppen verpackt werden, welche zum Enthalten des behandelten Materials geeignet sind, wobei Standard- Verpackungsmaterialien verwendet werden (z. B. in einer Schrumpfpackung, einem versiegeltem Paket, Schutzumhüllung oder einem Spendebehälter, geeignet zum Enthalten trockener oder nasser Materialien).

[0078] Der Erzeugnisartikel kann, darauf aufgetragen, eine beliebige der zusätzlichen/wahlfreien Komponenten einer therapeutischen Zusammensetzung dieser Erfindung aufweisen, wobei Träger, Salze, FOS, Gärungsstoffe und dergleichen eingeschlossen sind.

[0079] Ein beliebiges einer Vielzahl von Verfahren zum Aufbringen der therapeutischen Zusammensetzung auf einen vorliegenden Gegenstand kann angewandt werden, und deshalb darf die Erfindung nicht in solcher Art eingeschränkt werden. Allerdings schließen bevorzugte Verfahren ein "Sprüh-Trocknungs"-Verfahren ein, worin das Material in einer Niedrigfeuchtigkeits-Kammer an eine zerstäubte Mischung, enthaltend eine flüssige Zusammensetzung, ausgesetzt wird, wobei die Kammer anschließend an etwa 80–110 Grad Fahrenheit exposiert wird, um die Flüssigkeit zu trocknen, wodurch das Material des Gegenstands mit den Komponenten der Zusammensetzung imprägniert wird. Eine typische Beladung beträgt 10^5 bis 10^9 cfu Bakterien/Sporen pro ml Zerstäubungsmischung, um diese selbe Menge auf etwa einem Quadrat-Zoll Außenoberfläche an faserartigem Träger/Gegenstand-Material aufzubringen. Der trockene Gegenstand ist dann bereit zur Aufbewahrung in einer sterilen Verpackung für die Verwendung.

Beispiele

[0080] Die folgenden Beispiele, welche diese Erfindung betreffen, sind veranschaulichend und sollten selbstverständlich nicht als die Erfindung spezifisch einschränkend ausgelegt werden. Darüber hinaus sollen solche, jetzt bekannten oder künftig entwickelten, Variationen der Erfindung, welche innerhalb des Überblicks des Fachmanns auf dem Gebiet liegen, so angesehen werden, dass sie innerhalb des Umfangs der hierin nachstehend beanspruchten, vorliegenden Erfindung liegen.

Beispiel 1: Antimikrobielle Aktivität von *B. coagulans*

[0081] Die Fähigkeit von *B. coagulans*, verschiedene Pilzpathogene zu inhibieren, wurde unter Anwendung eines in-vitro-Assays demonstriert. Die getesteten Pilzstämme von *Trichophyton*-Spezies waren von der American Type Culture Collection (ATCC) (Rockville, Maryland) erhältlich, und ihre ATCC-Zugangsnummern sind in der Tabelle 2 gezeigt. In dem Assay wurden Kartoffel-Dextrose-Platten (DIFCO®, Detroit, MI) unter Anwendung von Standardverfahrensweisen hergestellt und wurden einzeln mit einem konfluenten Bett (etwa $1,7 \times 10^6$) verschiedener Spezies des Pilzes *Trichophyton* angeimpft. Eine Inhibititon durch *B. coagulans* wurde getestet, indem etwa $1,5 \times 10^6$ Kolonie-bildende Einheiten (CFU) in 10 µl Nährmedium oder Puffer auf die Platte aufgebracht wurden, wobei direkt in der Mitte der Kartoffel-Dextrose-Platte mit einem Testort pro Platte ausplattiert wurde. Die Größe jedes Testorts betrug etwa 8 mm Durchmesser, und ein Minimum von drei Tests wurde für jeden Inhibitions-Assay durchgeführt. Die Negativkontrolle war ein 10-µl-Tropfen sterile Kochsalzlösung, und die Positivkontrolle war ein gleiches Volumen an 2% Miconzaol (1-[2-(2,4-Dichlorophenyl)methoxy]ethyl]-1H-imidazol in einer inerten Creme. Die Platten wurden dann etwa 18 Stunden lang bei 30°C inkubiert, als die Inhibitionszone gemessen wurde. Wie hierin verwendet, bedeutet "ausgezeichnete Inhibition", dass die Zone einen Durchmesser von 10 mm oder größer aufwies; und "gute Inhibition" bedeutet, dass die

Zone einen größeren Durchmesser als 2 mm, aber einen kleineren Durchmesser als 10 mm aufwies.

[0082] Die Ergebnisse der in-vitro-Inhibition durch *B. coagulans* sind in der Tabelle 2 gezeigt. Für jede der getesteten *Trichophyton*-Spezies ist der mit einer Infektion assoziierte Krankheitszustand in der Spalte 2 von Tabelle 2 aufgelistet. Zum Vergleich wurde keine Inhibitionzone mit der Negativkontrolle beobachtet. Eine gute Inhibition (etwa 8,5 mm Durchmesser, mittlerer Durchschnitt von drei Tests) wurde mit der Positivkontrolle beobachtet.

Tabelle 2

<u>Pathogen</u>	<u>damit verbundene Krankheit</u>	<u>Inhibitionsergebnisse</u>
<i>T. mentagrophytes</i> (ATCC# 4808)	Tinea pedis (Fusspilz)	ausgezeichnet
<i>T. interdigitale</i> (ATCC# 9129)	Tinea pedis (Fusspilz)	ausgezeichnet
<i>T. mentagrophytes</i> (ATCC# 36107)	Tinea versicolor (Ringelflechte)	ausgezeichnet
<i>T. mentagrophytes</i> (ATCC# 8125)	Tinea barbae (Gesicht- & Nackenentzündung)	gut
<i>T. mentagrophytes</i> (ATCC# 9533)	Tinea pedis	ausgezeichnet
<i>T. mentagrophytes</i> (ATCC# 28187)	Tinea pedis	ausgezeichnet
<i>T. rubrum</i> (ATCC# 18753)	milde Dermatophytose	gut
<i>T. yaoundei</i> (ATCC# 13947)	Kopfflechte	gut

[0083] In ähnlicher Weise wurde die Fähigkeit von *B. coagulans*, verschiedene Hefe-Pathogene zu inhibieren, in vitro für vier Spezies von *Candida* aufgezeigt, welche alle von der American Type Culture Collection (Rockville, Maryland) erhältlich sind, wobei ihre ATCC-Zugangsnummern in der Tabelle 3 gezeigt werden. In dem Assay wurden Kartoffel-Dextrose-Platten (DIFCO®, Detroit, MI) unter Anwendung von Standardverfahrensweisen hergestellt und wurden einzeln mit einem konfluenteren Bett von etwa $1,7 \times 10^6$ der vier Spezies von *Candida* angeimpft. Eine Inhibition durch *B. coagulans* wurde getestet, indem etwa $1,5 \times 10^6$ CFU in 10 µl Nährmedium oder Puffer auf die Platte aufgebracht wurden, wobei direkt in der Mitte der Kartoffel-Dextrose-Platte mit einem Testort von etwa 8 mm Durchmesser pro Platte ausplattiert wurde. Ein Minimum von drei Tests wurde für jeden Inhibition-Assay durchgeführt. Die Negativkontrolle war ein 10 µl großer Tropfen von steriler Kochsalzlösung, und die Positivkontrolle war ein 10-µl-Volumen von Miconazol-Creme. Die Platten wurden dann etwa 18 Stunden lang bei 30°C inkubiert, als die Inhibitionzone unter Anwendung der gleichen Kriterien, wie früher hierin definiert, gemessen wurde. Mit der Negativkontrolle wurde keine Inhibition beobachtet, und eine gute Inhibition (etwa 8,7 mm Durchmesser, Mittelwert von drei Tests) wurde mit der Positivkontrolle beobachtet.

[0084] Die Ergebnisse der in vitro-Tests werden in der Tabelle 3 mit den pathologischen Befunden bei Menschen, welche mit einer Infektion durch die in Spalte 2 gezeigte *Candida*-Spezies assoziiert sind, gezeigt.

Tabelle 3

<u>Spezies</u>	<u>Pathologie</u>	<u>Inhibitions-Ergebnisse</u>
<i>Candida albicans</i> (ATCC# 26555)	chronische mukokutane Candidiasis, Myositis und Thymom	ausgezeichnet
<i>C. albicans</i> (ATCC# 44203)	systemische Candidiasis	ausgezeichnet
<i>C. albicans</i> (ATCC# 44807)	Hefe- und Myzel-Phase	ausgezeichnet
<i>C. tropicalis</i> (ATCC# 62377)	cervikale Hefe-Infektion	ausgezeichnet

[0085] In gleicher Weise wurde das Vermögen von *B. coagulans*, opportunistische bakterielle Pathogene zu inhibieren, in vitro für *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* gezeigt, welche Teile eines standardmäßigen Bakterienpathogen-Screens sind (U.S. Food and Drug Administration) und im Handel auf festen Trägerscheiben (DIFCO® BACTROL®-Disk-Set) erhältlich sind. In dem Assay wurden Kartoffel-Dextrose-Platten (DIFCO®) unter Verwendung von Standard-Verfahrensweisen hergestellt und wurden individuell mit einem konfluenten Bett von je $1,5 \times 10^6$ der vier Bakterienspezies inkuliert. Die Inhibition durch *B. coagulans* wurde getestet mittels Aufbringen von $1,5 \times 10^6$ CFU in 10 µl Nährmedium oder Puffer auf der Platte, wobei direkt in der Mitte der Kartoffel-Dextrose-Agarplatte mit einem Testort mit einem Durchmesser von etwa 8 mm pro Platte ausplattiert wurde.

[0086] Für jeden Assay wurde ein Minimum von drei Testorten verwendet. Die Negativkontrolle war ein 10-µl-Tropfen einer sterilen Kochsalzlösung, und die Positivkontrolle war ein 10-µl-Volumen an Glutaraldehyd. Die Platten wurden dann etwa 18 Stunden lang bei 30°C inkubiert, als die Inhibitionszone gemessen wurde, wobei die gleichen Kriterien angewandt wurden, wie hierin früher definiert. Keine Inhibition wurde mit der Negativkontrolle beobachtet, und eine ausgezeichnete Inhibition (etwa 16,2 mm Durchmesser, Mittelwert aus drei Tests) wurde mit der Positivkontrolle beobachtet. Eine ausgezeichnete Inhibition wurde auch für beide opportunistischen Pathogene, *P. aeruginosa* und *S. aureus*, beobachtet.

[0087] Beispiel 2: Formulierung einer therapeutischen Zusammensetzung Formulierung 1: Bade-Formulierung (per Bad/Dosierung)

<i>B. coagulans</i>	250 000 000 Sporen (~18 mg)
Badesalze (Meer- & Mineralsalze)	10 g
Fructo-Oligosaccharide (FOS)	1 g
mikrokristalline Cellulose (MCC)	5 g
Geruchsstoff	Spurenmenge

[0088] Formulierung 2: Topische Salbe (per ml)

<i>B. coagulans</i> -Extrakt (Beispiel 3B)	100 µl
Lanolin	780 µl
Emu-Öl	100 µl
ätherisches Geranium-Öl	20 µl
Geruchsstoff	Spurenmenge

[0089] Formulierung 3: Topische Flüssigkeit für Tropfer-Anwendung (per ml)

B. coagulans-Extrakt (Beispiel 3B)	500 µl
Emu-Öl	450 µl
ätherisches Geranium-Öl	20 µl
Detergens Tween-80	30 µl
Geruchsstoff	Spurenmenge

[0090] Formulierung 4: Pulver (per Gramm)

B. coagulans	100 000 000 Sporen (~8 mg)
Talk	992 mg
pulverisierter Lavendel-Duftstoff	Spurenmenge

Beispiel 3A: Herstellung von B. coagulans-Sporen

[0091] Eine Kultur von getrockneten B. coagulans-Sporen wurde wie folgend hergestellt.

[0092] Zehn Millionen Sporen wurden in einen Liter Kultur, enthaltend 24 g KartoffelDextrose-Nährmedium, 10 g Enzymverdau von Geflügel- und Fischgewebe, 5 g FOS und 10 g MnSO₄, inkuliert. Die Kultur wurde 72 Stunden lang unter einer Hoch-Sauerstoff-Umgebung bei 37°C gehalten, um eine Kultur zu erzeugen, welche etwa 150 Milliarden Zellen pro Gramm Kultur aufweist. Danach wurde die Kultur filtriert, um Kulturmediums-Flüssigkeit zu entfernen, und das Bakterien-Pellet wurde in Wasser resuspendiert und gefriergetrocknet. Das gefriergetrocknete Pulver wird dann unter Einsatz der "standardmäßigen guten Anfertigungs-Praxis" (GMP) zu einem feinen Pulver zermahlen. Das Pulver wird dann in Formulierung 1 oder Formulierung 4 kombiniert, wie beschrieben in Beispiel 2, um trockene Pulver-Zusammensetzungen zu bilden.

Beispiel 3B: Herstellung von extrazellulären B. coagulans-Produkten

[0093] Eine 1 Liter große Kultur von B. coagulans wurde hergestellt, wie beschrieben in Beispiel 3A, außer dass das FOS weggelassen wurde. Die Kultur wurde 5 Tage lang gehalten, wie beschrieben, wobei zu dieser Zeit FOS bei 5 g/Liter zugesetzt wurde, und die Kultur wurde fortgesetzt. 20 ml Karotten-Fruchtmark wurden dann am Tag 7 zugegeben, und die Kultur wurde geerntet, als die Kultur gesättigt wurde (keine wesentliche Zellteilung). Die Kultur wurde zuerst 30 Minuten lang bei 250 Grad Fahrenheit autoklaviert und dann 15 Minuten lang bei 4000 U/min zentrifugiert. Der resultierende Überstand wurde abgesammelt und in einem Buchner-Trichter durch einen 0,8-Mikrometer(µ)-Filter filtriert, und das Filtrat (Durchlauf) wurde aufgefangen und ferner durch einen 0,2-µ-Nalge-Vakuumfilter filtriert. Der resultierende Durchlauf wurde aufgefangen (etwa 900 Milliliter), um eine Flüssigkeit zu bilden, welche ein extrazelluläres Produkt enthielt, und wurde in Inhibitions-Untersuchungen verwendet.

[0094] Unter Befolgeung des in Beispiel 1 unter Verwendung von Candida albicans beschriebenen Assays wurde ein Milliliter des oben stehend hergestellten extrazellulären Produkts, anstelle des Bakteriums, zu der Testplatte zugesetzt. Nach der gleichen Kultivierungszeit wurde eine Inhibitionszone von etwa 10 bis 25 Millimeter beobachtet, was eine wirkungsvolle antimikrobielle Aktivität von "ausgezeichneter" Qualität, unter Verwendung der Terminologie von Beispiel 1, anzeigt.

[0095] Die Flüssigkeit, welche das extrazelluläre Produkt enthält, wurde zu einer flüssigen Salbenzusammensetzung zur Verwendung in der direkten Aufbringung auf ein Gewebe unter Einsatz einer Tropfvorrichtung formuliert, so dass sie zweckmäßig zur Behandlung einer Pilzinfektion des Zehennagels sein wird. Diese flüssige Salbe wurde durch Vereinigen des oben stehend hergestellten flüssigen extrazellulären Produkts mit ätherischem Emu-Öl in einem Verhältnis von etwa 8:2 hergestellt, und Spuren-Geruchsstoffe wurden zugesetzt, um eine ästhetische Komponente zu erzeugen.

[0096] Alternativ dazu kann man jedwede liposomale oder ölbasierte transdermale Zuführungskomponente anstatt des Emu-Öls verwenden. Das typische Verhältnis von probiotischem extrazellulärem Produkt zu Träger- oder Zuführungskomponente liegt in einem Bereich von etwa 1 bis 90% Probiotikum und vorzugsweise etwa 10 bis 75% Probiotikum.

Beispiel 4: Topische Anwendung zur Verhinderung von Windel-Ekzem

[0097] Ein Pulver, eine Aerosol-Sprühflüssigkeit oder ein Aerosol-Sprühpulver, enthaltend B. coagulans-Wirkstoff, vorzugsweise B. coagulans-Sporen, wird vom Anwender vor der Verwendung auf Windeln aufgetragen.

Alternativ dazu können vom Hersteller gelieferte Einweg-Windeln aktives *B. coagulans*-Agens, vorzugsweise *B. coagulans*-Sporen, imprägniert in das Windelmaterial, enthalten, wo es bei der Verwendung angrenzend an der Haut des Kindes vorliegen wird. Wenn die Windel durch Urin und/oder Fäkalien-Material befeuchtet wird, werden die Sporen aktiviert, üblicherweise innerhalb von etwa 20 Minuten. Die *B. coagulans*-Sporenkeimung und das *B. coagulans*-Wachstum nach der Sporenkeimung erzeugen eine ausreichende Anti-Pilz- einschließlich Anti-Hefe-Aktivität, um das Wachstum von Hefe- und Pilzorganismen in den Windeln und auf der Haut des Kindes zu hemmen, wodurch ein Windelekzem oder andere mit Windeln assoziierte opportunistische Infektionen verhindert werden.

[0098] Alternativ oder zusätzlich zur Behandlung von Windeln mit *B. coagulans* kann die Haut des Kindes im Windelbereich mit einem gesättigten weichen Wischtuch, Pulver, Aerosol-Sprühflüssigkeit, Aerosol-Sprühpulver, einer Lotion, Creme oder Salbe, welche *B. coagulans*-Wirkstoff enthalten, behandelt werden. Optimalerweise wird die *B. coagulans*-Formulierung auf die Haut des Kindes nach dem Baden und/oder beim Wechseln der Windeln aufgetragen.

[0099] Geeignete Formulierungen schließen ein Pulver aus Talk und gegebenenfalls Geruchsstoff, enthaltend etwa 10^5 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm, ein. Andere geeignete Pulverformulierungen enthalten Talk, Mineralöl, Magnesiumcarbonat, DMDM-Hydantoin und etwa 10^5 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm oder etwa 10^5 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm eines Maisstärke- und Calciumcarbonat-Pulvers. Ein Aerosol-Pulver, welches ein Isobutan oder anderes gut bekanntes Treibmittel enthält, hergestellt unter Anwendung von Standardverfahren, ist ebenfalls geeignet. Ein Aerosol-Spray kann durch Vereinigen von etwa 10^6 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm in Isopropylmyristat, etwa 60% (w/w) SD-Alkohol 40-B und Isobutan als dem Treibmittel unter Anwendung von Standardverfahren formuliert werden. Ein Handpumpen-Spray, enthaltend etwa 10^5 bis etwa 10^{11} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm einer neutralen wässrigen Lösung ohne chemisches Treibmittel, ist ebenfalls geeignet. Eine geeignete Spray-Formulierung schließt Alkohol, Glycerin, gereinigtes Wasser und Methylparaben zusätzlich zu dem *B. coagulans*-Probiotikum ein. Eine Creme-Formulierung schließt Aloe-Vera-Gel, Isopropylmyristat, Methylparaben, Polysorbat 60, Propylparaben, gereinigtes Wasser, Sorbitanmonostearat, Sorbitol-Lösung, Stearinsäure und etwa 10^5 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm ein. Eine andere Schutz-Creme enthält die Vitamine A und D, äquivalent zu der Konzentration, welche in Lebertran-Öl gefunden wird, Cetylpalmitat, Baumwollsamenöl, Glycerin, Glycerolmonostearat, wahlfreien Geruchsstoff, Methylparaben, Mineralöl, Kaliumstearat, Propylparaben und etwa 10^5 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm. Eine Salbe enthält Lebertran, Lanolin-Öl, Methylparaben, Propylparaben, Talk, wahlfreien Geruchsstoff und etwa 10^5 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm. Eine andere Salbenformulierung schließt Petrolatum, Wasser, Paraffin, Propylenglycol, Milchprotein, Lebertran, Aloe-Vera-Gel, wahlfreien Geruchsstoff, Kaliumhydroxid, Methylparaben, Propylparaben, die Vitamine A, D und E und etwa 10^5 bis etwa 10^{10} *B. coagulans*-Sporen pro Gramm ein. Ein weiches Stoff-Polster (z. B. ein Babywischtuch) wird in einer wässrigen Lösung (z. B. Wasser, Amphoteric 2, Aloe-Vera-Gel, DMDM-Hydantoin oder eine wässrige Lösung von 30%–70% Alkohol) und etwa 10^4 bis etwa 10^9 *B. coagulans*-Sporen pro Gramm getränkt.

[0100] Beispiel 5: Topische Behandlung von vaginaler Hefeinfektion

[0101] Badeprodukte, einschließlich granuliertem oder pulverförmigem Schaumbad, Badekristallen, Badesalzen, Badeölen, Pulvern, Aeorsol-Mikropartikulaten und dergleichen, zur Behandlung von vaginalen Infektionen mit *Candida albicans* und/oder *C. tropicalis* werden in einer beliebigen einer Vielzahl von gut bekannten Formulierungen, enthaltend *B. coagulans*-Sporen, wie folgend hergestellt. Für Schaumbäder, Badekristalle, Badesalze, Badeöle und dergleichen, welche in Badewasser eingebracht werden, werden etwa 5×10^9 *B. coagulans*-Sporen pro Standardbad (etwa 30 bis 100 Gallonen) eingesetzt, so dass eine Badepulverzusammensetzung etwa $150\text{--}200 \times 10^6$ Sporen pro Gramm Pulver umfasst. Für Scheuerpulver (Talk-Typ) werden etwa 1×10^9 *B. coagulans*-Sporen pro Gramm Talk, pulverförmigem Hafermehl, Maisstärke oder einer ähnlichen pulverisierten Substanz verwendet. Für Aerosole von Mikropartikulaten werden etwa 1×10^9 *B. coagulans*-Sporen pro ml Träger verwendet.

[0102] Ein Badeöl enthält etwa 10^9 *B. coagulans*-Sporen pro ml einer ölbasierten Formulierung, wie Mineralöl, Laureth-4, Quaternium-18-Hectorit und Phenylcarbinol. Formulierungen auf Naturöl-Basis, enthaltend etwa 10^9 *B. coagulans*-Sporen pro ml einer Mischung, welche beispielsweise Olivenöl, Traubenkernöl, Emu-Öl, Süßmandelöl, Geranium-Öl, Grapefruit-Öl, Mandarinenöl und Pfefferminzöl einschließt, sind ebenfalls, mit oder ohne Geruchsstoff, geeignet.

[0103] Ein geeigneter Nicht-Seifen-Erweichungsreiniger schließt Natriumoctoxynol-2-ethansulfonat-Lösung

in Wasser, Petrolatum, Octoxynol-3, Mineralöl oder Lanolinöl, Cocoamid-MEA, wahlfreien Geruchsstoff, Imidazolidinyl-Harnstoff, Natriumbenzoat, Tetranatrium-EDTA, Methylcellulose, eingestellt auf pH 6,5 bis 7,5, und etwa 10^7 bis etwa 10^{10} B. coagulans-Sporen pro Gramm ein. Andere geeignete Reiniger schließen gut bekannte Formulierungen auf Basis von Wasser, Glycerin und Natriumoleat ein, eingestellt auf einen pH-Wert von etwa 7,0, und enthaltend etwa 10^7 bis etwa 10^{10} B. coagulans-Sporen pro Gramm. Durch Standardverfahren hergestellte Hartseifen können ebenfalls etwa 10^7 bis etwa 10^{10} B. coagulans-Sporen/g einschließen, weil die Sporen den Druck und die Wärme während der Seifenherstellung überstehen können.

[0104] Ein weiches Stoff-Einwegtuch, getränkt in einer Lösung von Wasser, Kaliumsorbat, Dinatrium-EDTA und enthaltend etwa 10^6 bis etwa 10^9 B. coagulans-Sporen pro Einwegtuch, kann verwendet werden, um den äußeren Vaginalbereich zu säubern. Zusätzliche Komponenten für die Formulierung können DMDM-Hydantoin, Isopropylmyristat, Methylparaben, Polysorbat 60, Propylenglycol, Propylparaben oder Sorbitanstearat einschließen. Das Einwegtuch zum einmaligen Gebrauch wird verwendet, um den perivaginalen Bereich vorsichtig abzuwischen und wird dann weggeworfen.

[0105] Darüber hinaus sind vaginale Suppositorien oder Inserts, enthaltend etwa 1×10^8 B. coagulans-Sporen in einer inerten festen Formulierung, nützlich zur Schleimhautbehandlung von C. albicans- und/oder C. tropicalis-Infektionen. Solche Formulierungen sind im Fachgebiet gut bekannt und können beispielsweise aus einer Kombination von Maisstärke, Lactose, einem Metallstearat (z. B. Magnesiumstearat) und Povidon hergestellt werden. Ein bis drei Inserts sollten täglich verwendet werden, wobei in optimaler Weise etwa ein Insert täglich während insgesamt drei bis sieben Tagen, vorzugsweise während der Nachtruhe, verwendet wird.

Beispiel 6: Vorbeugung und/oder Behandlung von opportunistischen Hautinfektionen

[0106] Opportunistische Hautinfektionen mit Pseudomonas- und/oder Staphylococcus-Spezies (typischerweise P. aeruginosa, S. epidermidis, S. aureus) treten üblicherweise in Verbindung mit Hautallergien (z. B. allergischen Reaktionen auf Pflanzenreizstoffe, wie Giftsumach), Dekubitus, diabetischen Schäden oder anderen Typen von Hautschäden auf. Probiotische Formulierungen, welche B. coagulans-Sporen (10^5 bis 10^{10} /ml, abhängig von der Formulierung und der Anwendung) und/oder Überstand oder Filtrat, enthaltend von B. coagulans hergestellte extrazelluläre Bakteriozine, enthalten, sind nützlich zur Verhinderung oder Behandlung von opportunistischen Hautpathogenen. Darüber hinaus sind probiotische B. coagulans-Formulierungen nützlich, um eine Infektion mit Methicillin-resistentem Staphylococcus aureus (MRSA), insbesondere im Anschluss an Verwundung oder chirurgische Einschnitte, zu verhindern. Eine Wasser-in-Öl- oder Öl-in-Wasser-Emulsion, Creme, Lotion, Pulver, Aerosol-Pulver oder Aerosol-Spray, enthaltend etwa 1×10^6 bis etwa 1×10^9 B. coagulans-Sporen pro ml, wird verwendet. Einige geeignete Träger sind hierin beschrieben, und andere sind im Fachgebiet gut bekannt.

[0107] Die Haut wird mit Seife und Wasser gesäubert und gründlich abgetrocknet. Dann wird die B. coagulans enthaltende Formulierung auf die Haut aufgebracht, wobei sichergestellt wird, dass die Formulierung zwischen die Zehen, unter die Brüste, unter die Arme oder andere Bereiche gelangt, wo die Haut feucht werden oder Reibungsscheuern aufzeigen kann.

[0108] Zusätzlich zur topischen Behandlung der Haut mit einer Emulsion, Creme, Lotion, Pulver, Aerosol-Pulver oder Aerosol-Spray, enthaltend B. coagulans-Probiotikum, kann die Haut mit einer probiotischen Formulierung, wie hierin beschrieben, gereinigt werden.

Beispiel 7: Behandlung von Tinea-Pilzinfektionen

[0109] Ringelflechte (Tinea versicolor) wird durch lokalisierte Infektionen der Haut des Rumpfes und des Halses durch einen Dermatophyten-Pilz verursacht, der die äußere Schicht der Haut besiedelt, was im Allgemeinen zu kreisförmigen Flecken von weißer, brauner oder rosafarbener schuppender Haut führt, welche häufig jucken. Sobald eine Ringelflechte detektiert wird, wird der betroffene Bereich und eine Umgebung von etwa 1 bis 10 cm^2 Fläche zweimal täglich mit einer Creme oder Lotion, enthaltend 10 Gew.-% B. coagulans-Sporen, behandelt. Geeignete Träger sind hierin beschrieben, wobei sie optimalerweise etwa 10^5 bis etwa 10^{10} B. coagulans-Sporen pro ml Träger enthalten.

[0110] Für die Behandlung von Tinea cruris ('Jock itch' bzw. Mykose der Leistenbeuge) wird ein Pulver, enthaltend etwa 10^7 bis etwa 10^9 B. coagulans-Sporen pro ml kolloidales Siliziumdioxid, Isopropylmyristat, Talk und wahlfreiem Geruchsstoff, auf die Leistengegend aufgetragen, um eine Linderung des Juckens, Scheuerns,

brennenden Hautausschlags und der Reizung vorzusehen. Die Behandlung erfolgt Zweimal täglich, im Allgemeinen nach dem Baden und zur Nachtruhe, bis Symptome nicht länger detektiert werden.

[0111] Kleidung, insbesondere Unterwäsche und Schlafanzüge, welche in Kontakt mit dem Rumpf und dem Nacken kommen, werden mit einem Aerosol eingesprührt, enthaltend etwa 1% bis etwa 20% B. coagulans-Wirkstoff in einem geeigneten Träger, wie hierin beschrieben, um die Ausbreitung der Infektion auf weitere Bereiche des Körpers zu unterbinden.

Beispiel 8: Behandlung von oberflächlichen Hautinfektionen

[0112] Oberflächliche Infektionen mit Staphylococcus-Spezies (z. B. S. aureus, S. epidermidis) von einer blockierten Schweiß- oder Talgdrüse verursachen Pusteln, Eiterbeulen bzw. Furunkel, Abszesse, Gerstenkörner oder Karbunkel. Diese oberflächlichen Hautinfektionen können von einem blasenbildenden Ausschlag, insbesondere bei Babys, wegen der bakteriellen Toxine, welche von der Staphylococcus-Spezies abgegeben werden, begleitet werden.

[0113] Eine Wasser-in-Öl- oder Öl-in-Wasser-Emulsion, Creme, Lotion oder Gel, enthaltend etwa 1×10^6 bis etwa 1×10^9 B. coagulans-Sporen pro ml, kann eingesetzt werden. Ein beispielhaftes topisches Gel wird hergestellt durch Zusammenmischen von gleichen Volumina von Propylenglycol und Wasser, ein Gew.-% Hydroxypropylzellulose (MG 100 000 bis 1 000 000) und lyophilisierter B. coagulans-Kultur zu einer Endkonzentration von 1×10^6 bis etwa 1×10^9 B. coagulans-Sporen pro ml der Kombination und Zulassen des Absetzens der gerührten Mischung während 3 bis 5 Tagen unter Bildung eines Gels. Andere Formulierungen werden hierin präsentiert.

[0114] Die/Das B. coagulans enthaltende Emulsion, Creme, Lotion oder Gel wird auf den Bereich der Haut aufgetragen, der oberflächliche Hautinfektionen (Pusteln, Eiterbeulen, Abszesse, Gerstenkörner oder Karbunkel) oder Ausschlag zeigt, und sanft in die Haut eingerieben und an der Luft trocknen gelassen. Die Anwendungen erfolgen mindestens einmal täglich, bevorzugt zwei- bis dreimal täglich (z. B. morgens und nachts), oder nach jedem Waschen des infizierten Bereichs für jene Bereiche, die häufig gewaschen werden (d. h. die Hände oder der Windelbereich). Die Anwendungen werden fortgesetzt, bis die Hautentzündung abgeklungen ist und die Haut dem Betrachter normal erscheint. In Fällen, bei welchen eine Schorfbildung im infizierten Bereich stattgefunden hat, werden die einmal täglichen Aufbringungen fortgesetzt, bis Schorf nicht länger vorhanden ist.

Beispiel 9: Akne-Behandlung

[0115] Für die Behandlung oder Verhinderung von Akne vulgaris wird ein Reiniger, enthaltend B. coagulans-Wirkstoff, der aus einem Überstand einer Bakterienkultur erhalten wird, täglich als ein Hautpflegeprodukt zur Entfernung von überschüssigem Schmutz und Öl und zur Verhinderung einer opportunistischen Infektion der Haut angewandt. Ein geeigneter Reiniger schließt Bentonit, Cocoamphodipropionat, wahlfreien Geruchsstoff, Glycerin, Eisenoxide, Magnesiumsilicat, Natriumborhydrid, Natriumchlorid, Natriumcocoat, Natriumtallowat, Talkum, Tetranatrium-EDTA, Titandioxid, Trinatrium-HEDTA, Wasser und etwa 1% bis etwa 20% (v/v) eines wässrigen Überstands oder Filtrats einer B. coagulans-Kultur, welche bis zur Sättigung wachsen gelassen wurde, ein.

[0116] Ein ähnlicher Reiniger, insbesondere für empfindliche Haut, schließt etwa 30–50 kolloidales Hafermehl, suspendiert in einer Basis aus Wasser, Glycerin, Distearylimonium-Chlorid, Petrolatum, Isopropylpalmitat, Cetylalkohol, Dimethicon, Natriumchlorid, eingestellt auf einen pH-Wert von etwa 7,0 und enthaltend etwa 5% bis etwa 50% (v/v) eines wässrigen Überstands oder Filtrats einer bis zur Sättigung gewachsenen B. coagulans-Kultur, ein.

[0117] Alternativ dazu kann die Haut unter Verwendung eines beliebigen gut bekannten Reinigers gereinigt werden, und dann wird eine Creme, enthaltend B. coagulans-Wirkstoff aus einem Kulturüberstand oder Filtrat, auf die Haut in einem dünnen Film etwa einmal alle zwei Tage bis etwa dreimal täglich, nach Bedarf, aufgetragen. Eine geeignete Creme schließt etwa 10–12% Alkohol (w/w), Bentonit, wahlfreien Geruchsstoff, Eisenoxide, Kaliumhydroxid, Propylenglycol, Titandioxid, gereinigtes Wasser und etwa 0,5% bis etwa 60% (v/v) eines wässrigen Überstands oder Filtrats einer B. coagulans-Kultur, welche bis zur Sättigung wachsen gelassen wurde, ein.

[0118] Die oben genannte Formulierung ist geeignet zur Behandlung von Akne, welche von Propionibacteri-

um acne und von *Staphylococcus epidermidis* verursacht wird.

Beispiel 10: Behandlung von Fieberbläschen oder genitalen Herpes-Schäden

[0119] Fieberbläschen, im Allgemeinen rings um den oder im Mund, werden durch das Virus Herpes simplex I verursacht. Ähnliche Schäden um die Genitalien herum werden von Herpes simplex II verursacht. Herpes simplex-Infektionen können eine schmerzhafte Finger- oder Zehenschwellung verursachen (Nagelgeschwür). Beide Typen von Herpes simplex-Schädigungen oder Nagelgeschwür können mit einer Creme, Lotion oder Gel-Salbe, enthaltend etwa 1×10^7 bis etwa 1×10^{10} B. coagulans-Sporen pro ml behandelt werden.

[0120] Für Mund-Soore enthält ein beruhigender geschmeidigmachender Lippenbalsam Allantoin, Petrolatum, Titandioxid bei kosmetisch annehmbaren Spiegeln und etwa 10^7 bis etwa 10^{10} B. coagulans-Sporen pro ml. Der Lippenbalsam kann ferner ein Sonnenschutzmittel (z. B. Padimat O) einschließen. Ein alternativer geschmeidigmachender Lippenbalsam enthält dieselben Grundbestandteile, gemischt zur Bildung einer Emulsion mit 0,5% bis 20% (v/v) eines wässrigen Überstands oder Filtrats einer B. coagulans-Kultur, welche bis zur Sättigung wachsen gelassen wurde. Der Lippenbalsam wird auf die Lippen und den betroffenen Bereich unter Bildung eines zarten Films als ein Prophylaktikum, wenn prodromale Symptome gefühlt werden (Kribbeln, Jucken, Brennen), oder wenn eine Schädigung sichtbar ist, aufgetragen. Der Lippenbalsam sollte so oft wie benötigt (z. B. jede Stunde, wenn eine Schädigung vorhanden ist) und im Allgemeinen einmal täglich zur Nacht-ruhe aufgetragen werden.

[0121] Für orale Fieberbläschen, können die B. coagulans-Sporen oder extrazelluläres Agens in Kulturüberstand oder Filtrat zu einem halbfesten Lippenbalsam, enthaltend etwa 20–40% weißes Petrolatum, Wachs-Parraffin, Mineralöl, Isopropylanolat, Kampfer, Lanolin, Isopropylmyristat, Cetylalkohol, Carnuba-Wachs, Methylparaben, Propylparaben, Titandioxid und wahlfreien Geruchsstoff und Färbemittel, formuliert werden.

[0122] Für genitale Herpesschäden wird eine Creme oder Salbe unter Anwendung von Standardverfahren, wie hierin beschrieben, formuliert, enthaltend etwa 1×10^7 bis etwa 1×10^{10} B. coagulans-Sporen pro ml und/oder 0,5% bis 20% (v/v) eines wässrigen Überstands oder Filtrats einer B. coagulans-Kultur, welche bis zur Sättigung wachsen gelassen wurde. Die Creme oder Salbe wird mindestens zweimal täglich, wie benötigt, aufgetragen.

Beispiel 11: Ohrentropfen oder Ohrspülung, enthaltend B. coagulans-Sporen

[0123] Zur Verhinderung oder Behandlung von Infektionen des äußeren Ohrenkanals wird eine wässrige Formulierung verwendet, welche etwa 1×10^5 bis etwa 1×10^8 B. coagulans-Sporen pro ml und/oder 0,1% bis 15% (v/v) eines wässrigen Überstands oder Filtrats einer B. coagulans-Kultur, welche bis zur Sättigung wachsen gelassen wurde, einschließt. Die Sporen und/oder der Überstand werden zu einer sterilen wässrigen Lösung von 5–50% Glycerin, 0,1–5% Propylenglycol und Natriumstannat oder Natriumchlorid zugesetzt. Eine alternative Formulierung schließt etwa 1×10^5 bis etwa 1×10^8 B. coagulans-Sporen pro ml und/oder 0,1% bis 15 (v/v) eines wässrigen Überstands oder Filtrats einer B. coagulans-Kultur, welche bis zur Sättigung wachsen gelassen wurde, in einer sterilen wässrigen Lösung von 0,5–25% Glycerin, 5–10% Alkohol und Polysorbat 20 ein.

[0124] Zur Anwendung neigt der Benutzer den Kopf zur Seite, und etwa 3 bis 10 Tropfen der Ohrenformulierung werden unter Anwendung eines standardmäßigen Tropfapplikators in das Ohr gegeben, ohne dass der Applikator den Ohrkanal betritt. Der Kopf wird mehrere Minuten lang geneigt gehalten, oder das Ohr wird mit einem Wattebausch aus Baumwolle locker verstopft, um zu gestatten, dass die Lösung bis zu 15 Minuten lang im Ohr bleibt. Dann wird der Kopf schräg gestellt und überschüssige Lösung wird aus dem Ohr abfließen gelassen. Ein vorsichtiges Waschen mit einer weichen Gummibalg-Ohrenspritze, enthaltend warmes Wasser, kann angewandt werden, um den Überschuss zu entfernen. Die probiotische Lösung kann gelegentlich oder täglich bis zu etwa 5 Tage lang angewandt werden. Ein Arzt sollte aufgesucht werden, wenn es Abfluss, Absonderung, Ausschlag, schwere Reizung im Ohr gibt, oder wenn dem Patient schwindlig wird.

Beispiel 12: Prophylaxe oder Behandlung von Fußpilz

[0125] Zur Verhinderung oder Behandlung von Fußpilz (Tinea-Pilz-Infektion) werden die Füße mit Seife und Wasser gewaschen, gründlich getrocknet, und ein Pulver, eine Creme, Lotion, Salbe oder ein Gel, wie diejenigen, welche in den oben stehenden Beispielen beschrieben wurden, wird auf den gesamten Fußbereich aufgetragen. In optimaler Weise schließt die Formulierung etwa 10^5 bis etwa 10^8 B. coagulans-Sporen oder 0,5%

bis 20% B. coagulans-Überstand oder Filtrat ein. Tägliche Behandlungen werden fortgesetzt, wie benötigt.

[0126] Darüber hinaus kann Fußpilz durch Verwenden einer standardmäßigen Sohleneinlage (z. B. Textil, Faser oder Kunstschaum) verhindert oder behandelt werden, bei der B. coagulans-Probiotikum oder extrazelluläres Anti-Pilz-Produkt auf die Oberfläche aufgesprüht oder darin imprägniert worden ist. Derartige behandelte Einlegesohlen können täglich bis zu zwei bis drei Monate lang getragen werden, wenn sie mit frischen, behandelten Einlegesohlen ersetzt werden.

Patentansprüche

1. Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend ein *Bacillus coagulans*-Bakterium oder ein extrazelluläres Produkt davon, in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger für die Herstellung eines Medikamentes zum Verhindern einer bakteriellen, Hefe-, Pilz- oder Vireninfektion, wobei das Medikament für die topische Aufbringung auf die Haut oder eine Schleimhautmembran eines Säugers geeignet ist, und wobei der Träger in der Form einer Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder einer halbfesten Formulierung vorliegt.
2. Verwendung von Anspruch 1, wobei das *Bacillus coagulans*-Bakterium in der Zusammensetzung in der Form von Sporen eingeschlossen ist.
3. Verwendung von Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung 10^3 bis 10^{12} lebensfähige Bakterien oder Sporen pro Gramm der Zusammensetzung umfasst.
4. Verwendung von Anspruch 1, wobei das Medikament für die Verabreichung von 10^8 bis 10^{10} lebensfähigen Bakterien oder Sporen pro Tag ist.
5. Verwendung von Anspruch 1, wobei das Medikament für die Verabreichung von 5×10^8 bis 10^9 lebensfähigen Bakterien oder Sporen pro Tag ist.
6. Verwendung von Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung eine wirksame Menge eines Fructo-Oligosaccharids (FOS) umfasst.
7. Verwendung von Anspruch 6, wobei das FOS in einer Menge von etwa 10 bis 1000 Milligramm pro Gramm der Zusammensetzung vorhanden ist.
8. Verwendung von Anspruch 7, wobei das FOS in einer Menge von etwa 100 bis 500 Milligramm pro Gramm der Zusammensetzung vorhanden ist.
9. Verwendung von Anspruch 1, wobei das Medikament das Wachstum von einer oder mehreren Mikroben inhibiert, die aus der Gruppe gewählt sind, welche aus *Staphylococcus*-Spezies, *Pseudomonas*-Spezies, *Escherichia coli*, *Proteus*-Spezies, *Klebsiella*-Spezies, *Candida*-Spezies und *Trichophyton*-Spezies besteht.
10. Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend ein extrazelluläres Produkt eines *Bacillus coagulans*-Stamms in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger für die Herstellung eines Medikamentes zum Inhibitieren des Wachstums von Bakterien, Hefe, Pilzen, Viren oder einer Kombination davon, wobei das Medikament für die topische Aufbringung auf die Haut oder eine Schleimhautmembran eines Säugers geeignet ist, und wobei der Träger in der Form einer Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder einer halbfesten Formulierung vorliegt.
11. Verwendung von Anspruch 10, wobei die Zusammensetzung ferner Emu-Öl umfasst.
12. Verwendung einer Zusammensetzung, umfassend ein *Bacillus coagulans*-Bakterium oder ein extrazelluläres Produkt davon, aufgebracht auf eine feste Oberfläche, für die Herstellung eines Medikamentes zum Inhibitieren des Wachstums von Bakterien, Hefe, Pilzen, Viren oder einer Kombination davon, wobei das Medikament für die Aufbringung auf die Haut oder eine Schleimhautmembran eines Säugers geeignet ist.
13. Verwendung von Anspruch 12, wobei die feste Oberfläche einen flexiblen Gegenstand umfasst, der aus der Gruppe gewählt ist, welche aus einer Windel, geschmeidigem Material zum Abwischen von Haut oder einer Schleimhautmembran, einem Hautpflaster, Klebeband, einem absorptionsfähigen Polster, einem Tampon oder einem Kleidungsstück besteht.

14. Verwendung von Anspruch 12, wobei die Aufbringung auf eine feste Oberfläche das Imprägnieren der Zusammensetzung in eine faserartige oder nicht-faserartige feste Matrix umfasst.
15. Verwendung von Anspruch 12, wobei die Bacillus-Spezies in der Zusammensetzung in der Form von Sporen eingeschlossen ist.
16. Verwendung von Anspruch 12, wobei die Bacillus-Spezies in der Zusammensetzung in der Form einer getrockneten Zellmasse eingeschlossen ist.
17. Verwendung von Anspruch 12, wobei die Zusammensetzung 10^3 bis 10^{12} lebensfähige Bakterien oder Sporen pro Gramm der Zusammensetzung umfasst.
18. Verwendung von Anspruch 12, wobei die Zusammensetzung eine wirksame Menge eines Fructo-Oligosaccharids (FOS) umfasst.
19. Verwendung von Anspruch 18, wobei das FOS in einer Menge von etwa 10 bis 1000 Milligramm pro Gramm der Zusammensetzung vorhanden ist.
20. Verwendung von Anspruch 18, wobei das FOS in einer Menge von etwa 100 bis 500 Milligramm pro Gramm der Zusammensetzung vorhanden ist.
21. Zusammensetzung, umfassend ein *Bacillus coagulans*-Bakterium oder extrazelluläres Produkt davon in einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, der für topische Aufbringung auf die Haut oder eine Schleimhautmembran eines Säugers geeignet ist, wobei der Träger in der Form einer Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder einer halbfesten Formulierung vorliegt.
22. Zusammensetzung von Anspruch 21, wobei das *Bacillus coagulans*-Bakterium in der Zusammensetzung in der Form von Sporen eingeschlossen ist.
23. Zusammensetzung von Anspruch 21, wobei das *Bacillus coagulans*-Bakterium in der Zusammensetzung in der Form einer getrockneten Zellmasse eingeschlossen ist.
24. Zusammensetzung von Anspruch 21, wobei die Zusammensetzung 10^3 bis 10^{12} lebensfähige Bakterien oder Sporen pro Gramm der Zusammensetzung umfasst.
25. Zusammensetzung von Anspruch 21, ferner umfassend eine wirksame Menge eines Fructo-Oligosaccharids (FOS).
26. Zusammensetzung von Anspruch 25, wobei das FOS in einer Menge von etwa 10 bis 1000 Milligramm pro Gramm der Zusammensetzung vorhanden ist.
27. Zusammensetzung von Anspruch 25, wobei das FOS in einer Menge von etwa 100 bis 500 Milligramm pro Gramm der Zusammensetzung vorhanden ist.
28. Zusammensetzung von Anspruch 21, wobei das extrazelluläre Produkt ein Überstand oder Filtrat einer Kultur eines *Bacillus coagulans*-Stammes ist.
29. Zusammensetzung von Anspruch 21, welche ferner Emu-Öl umfasst.
30. Zusammensetzung von Anspruch 21, welche ferner ein Antipilzmittel umfasst.
31. Zusammensetzung von Anspruch 21, welche ferner ein antimikrobielles Mittel umfasst.
32. Zusammensetzung von Anspruch 21, welche ferner ein antivirales Mittel umfasst.
33. Zusammensetzung von Anspruch 30, wobei das Antipilzmittel Miconozol ist.
34. Zusammensetzung von Anspruch 21, wobei die Zusammensetzung ferner weißes Petrolatum, Isopropylmyristat, Lanolin, Lanolinalkohol, Mineralöl, Duftöl, ätherisches Öl, Nasturtium-Extrakt-Öl, Sorbitanmonoleat, Propylenglykol, Cetylstearylalkohol, Hydroxypropylcellulose, Polyoxystearat oder Natriumlaurylsulfat umfasst.

fasst.

35. Zusammensetzung von Anspruch 21, ferner umfassend ein Antioxidationsmittel, ein Puffermittel, ein Sonnenschutzmittel oder ein kosmetisches Mittel.

36. Flexibler Gegenstand, welcher auf der Haut oder Schleimhautmembran getragen oder gewischt werden kann, wobei der Gegenstand eine Zusammensetzung von *Bacillus coagulans* oder Wirkstoff von *Bacillus coagulans* einschließt.

37. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in Anspruch 36, welcher gewählt wird aus der Gruppe, die aus Windeln, Verbänden, Hygienetüchern wie Babywischtüchern oder Damenbinden, Tampons, Hautpflastern, Klebeband, absorptionsfähigen Polstern, Kleidungsstücken, wie Unterwäsche oder Schlafanzügen, Badehandtüchern und Waschtüchern bzw. -lappen, besteht.

38. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in Anspruch 36 oder Anspruch 37, welcher aus faserartigem gewebten oder gestrickten Material, Nonwoven-Material wie Filz und Wickelstoff, Faserbällen aus Baumwolle, Rayon, Cellulose, okklusiven oder nicht-okklusiven Folien oder Membranen, synthetischen Polymerfasern, -folien, -membranen oder Schäumen, wie Nylon-, Polytetrafluorethylen-, Polystyrol-, Polycarbonat-, Polyvinylchlorid- und Polysulfonschäumen, hergestellt ist.

39. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–38, wobei der *Bacillus coagulans* vegetative Bakterien, Sporen, eine getrocknete Zellmasse oder ein extrazelluläres Produkt einer *Bacillus coagulans*-Spezies umfasst.

40. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–39, wobei der *Bacillus coagulans* Zellen oder Sporen, welche lyophilisiert, sprühgetrocknet, luftgetrocknet und/oder gefroren worden sind, umfasst.

41. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in Anspruch 39, wobei das extrazelluläre Produkt ein Überstand oder ein Filtrat einer Kultur einer isolierten *Bacillus coagulans*-Spezies ist.

42. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–41, wobei es sich bei dem *Bacillus coagulans* um *Bacillus coagulans* Hammer handelt.

43. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–42, wobei die Zusammensetzung als Emulsion, Creme, Lotion, Gel, Öl, Salbe, Suspension, Aerosol-Spray, Pulver, Aerosol-Pulver oder halbfeste Formulierung formuliert ist.

44. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–43, welcher 10^5 bis 10^9 cfu Bakterien/Sporen pro Quadratinch der äußeren Oberfläche des Gegenstands umfasst.

45. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–44, wobei die Zusammensetzung von *Bacillus coagulans* oder *Bacillus coagulans*-Wirkstoff auf die Oberfläche des Gegenstands aufgebracht wird oder in den Gegenstand imprägniert wird.

46. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in Anspruch 45, wobei die Zusammensetzung von *Bacillus coagulans* oder *Bacillus coagulans*-Wirkstoff als ein Pulver auf den Gegenstand aufgebracht wird oder auf den Gegenstand sprühgetrocknet wird oder in der Form einer Lösung in den Gegenstand einsickern gelassen wird.

47. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–46, wobei der Gegenstand ein poröses Material umfasst, und der *Bacillus* oder Wirkstoff in den Poren oder Zwischenräumen des Materials enthalten ist.

48. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–47, ferner umfassend eine Menge an einem Fructooligosaccharid.

49. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in Anspruch 48, wobei das Fructooligosaccharid eine Polymerkettenlänge zwischen etwa 4 und 200 Zuckereinheiten aufweist.

50. Flexibler Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–49, welcher für einma-

ligen Gebrauch bzw. Wegwerfen vorgesehen ist.

51. Flexible Gegenstand, wie beansprucht in mindestens einem der Ansprüche 36–50, ferner umfassend ein oder mehrere antimikrobielle Mittel, antivirale Mittel und/oder Antipilzmittel.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen