

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202193154 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.03.02

(22) Дата подачи заявки
2020.05.20

(51) Int. Cl. A61K 35/744 (2015.01)
A61K 35/747 (2015.01)
A61P 17/10 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ, ОБЛЕГЧЕНИЯ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКИ АКНЕ

(31) PA 2019 00601; PA 2020 00124

(32) 2019.05.20; 2020.01.31

(33) DK

(86) PCT/EP2020/064124

(87) WO 2020/234382 2020.11.26

(71) Заявитель:
ЛАКТОБАЙО А/С (DK)

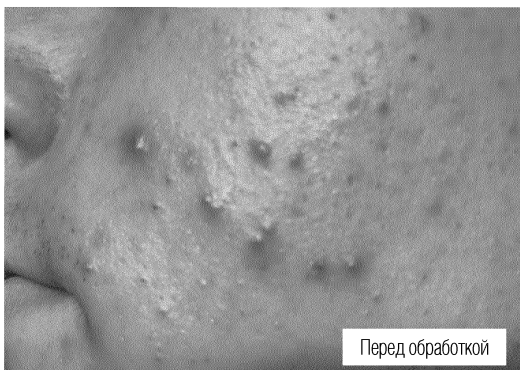
(72) Изобретатель:

Ведель Шарлотта, Ольсен Катя
Биллекоп, Кьерульф Сёрен (DK)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий, причем один или несколько штаммов бактерий проявляют более сильное ингибирование патогенных штаммов *C. acnes* по сравнению с непатогенными штаммами *C. Acnes*.



202193154 A1

202193154

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-571845EA/085

КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ, ОБЛЕГЧЕНИЯ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКИ АКНЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ НАСТОЯЩЕЕ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей штаммы бактерий., в частности, настоящее изобретение относится к новой дерматологической композиции для местного применения, содержащей штаммы бактерий, для лечения; облегчения; подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Acne vulgaris (акне) в настоящее время является одним из наиболее распространенных и хорошо известных дерматологических состояний, от которых страдает около 90% населения мира в какой-то момент их жизни. Заболевание представляет собой хроническое, воспалительное дерматологическое состояние сальной железы кожи с многофакторным патогенезом. Обычно оно возникает в период полового созревания в результате гормональных изменений и усугубляется генетическими факторами.

Cutibacterium acnes (ранее *Propionibacterium acnes*) представляет собой грамположительные, анаэробные бактерии, обнаруженные в сальных фолликулах, которые составляют часть естественной флоры пилосебацеального комплекса; Однако у людей, страдающих акне, обнаружены повышенные уровни конкретных риботипов *C. acnes*. В микросреде, образованной в условиях акне, *C. acnes* процветает за счет увеличения выработки кожного сала, используя его в качестве питательного вещества для роста. Уровни *C. acnes* в самих порах еще больше способствуют развитию комедонов.

C. acnes может одновременно стимулировать воспаление за счет метаболизма триглицеридов и высвобождения свободных жирных кислот. Воспаление инициируется активацией комплемента и выработкой провоспалительных медиаторов, которые диффундируют через стенку фолликула. Хорошо известно, что *C. acnes* активирует толл-подобный рецептор 2 (TLR2) на моноцитах и нейтрофилах. Затем активация TLR2 приводит к выработке множества провоспалительных цитокинов, особенно интерлейкина 12 (IL-12) и интерлейкина 8 (IL-8) и TNF α .

При повышенном давлении и привлечении медиаторов воспаления микрокомедон может разорваться с вытеснением в дерму иммуногенного кератина, кожного сала и бактерий. Это стимулирует дальнейшее усиление воспалительного ответа. Степень воспаления и соответствующие типы участвующих клеток определяют, развиваются ли на коже пустулы, воспаленные папулы, узелки или кисты. В тяжелых случаях акне с чрезмерным воспалением и повреждением тканей может возникнуть гиперпигментация и рубцы.

Существуют различные методы лечения акне. В целом, лечение акне осуществляют путем уменьшения выработки сала, ускорения обновления клеток кожи, борьбы с бактериальной инфекцией, уменьшения воспаления или выполнения всех четырех действий. Эти виды лечения акне включают в себя отпускаемые без рецепта средства для

местного применения, антибиотики, оральные контрацептивы и косметические процедуры.

Лосьоны от акне могут сушить сало, убивать бактерии и способствовать отшелушиванию омертвевших клеток кожи. Лосьоны, отпускаемые без рецепта (ОТС), обычно мягкие и содержат в качестве активного ингредиента пероксид бензоила, серу, резорцин, салициловую кислоту или серу. Антибиотики могут вызывать побочные эффекты, такие как расстройство желудка, головокружение или изменение цвета кожи. Эти препараты также повышают чувствительность кожи к солнцу и могут снизить эффективность оральных контрацептивов. При глубоких кистах антибиотиков может оказаться недостаточно. Изотретиноин (амнестим, клаварис, сотрет) - мощное лекарство от рубцов кистозных акне или акне, которое не поддается лечению другими методами. Однако изотретиноин имеет множество побочных эффектов, таких как сухость кожи, депрессия, сильная боль в желудке и боль в мышцах/суставах/спине, и может вызывать врожденные дефекты у детей, матери которых используют изотретиноин. В борьбе с акне могут помочь химический пилинг и микродермабразия. Эти косметические процедуры, которые традиционно используют для уменьшения появления тонких морщин, вреда от солнечных лучей и мелких рубцов на лице, наиболее эффективны в сочетании с другими средствами лечения акне. Они могут вызвать временное сильное покраснение, шелушение и образование пузырей, а также долгосрочное обесцвечивание кожи.

В WO 2017/220525 описан положительный эффект композиции, содержащей пробиотические бактерии, выбранные штаммы *Lactobacillus*, против развития обычных кожных патогенов, приводящих к акне, в частности, *L. plantarum*, *L. pentosus* и/или *L. rhamnosus*. Описано, что композиция, представленная в WO 2017/220525, содержит кислоты, такие как молочная кислота, продуцируемая выбранными штаммами *Lactobacillus*, которая действует как важный противомикробный фактор. Недостатком данного изобретения является то, что обеспечивается неспецифическое ингибирование *S. acnes* (а также естественной микробиоты кожи), таким образом, как патогенных риботипов *S. acnes* (вызывающего развитие *acne vulgaris*); так и непатогенных риботипов *S. acnes*.

В дополнение к негативным побочным эффектам, вызываемым доступными в настоящее время методами лечения, не существует лечения, которое нацелено на модуляцию микробиома кожи и нацелено на патогенные риботипы *S. acnes*. Таким образом, в данной области существует потребность в способах и лечении, специально нацеленных на патогенные *S. acnes* с ограниченным противомикробным действием на естественную микробиоту кожи и, таким образом, поддерживающих естественную микробиоту кожи для борьбы с акне.

СУЩНОСТЬ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Таким образом, цель настоящего изобретения относится к композиции, содержащей штаммы бактерий, которая решает вышеупомянутые проблемы предшествующего уровня техники.

В частности, настоящее изобретение относится к новой композиции, предпочтительно, новой дерматологической композиции для местного применения,

содержащей штамм бактерий для лечения; облегчения; подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов на коже млекопитающего, такого как человек, которая решает вышеупомянутые проблемы предшествующего уровня техники, связанные с кожными инфекциями акне, кожными заболеваниями, вызванными акне, кожным воспалением, высыханием кожи и рубцами, вызванными инфекциями акне.

Таким образом, один аспект изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий, причем один или несколько штаммов бактерий проявляют более сильное ингибирование патогенных штаммов *C. acnes* по сравнению с непатогенными штаммами *C. acnes*.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий, способных к более сильной коагрегации с одним или несколькими патогенными штаммами *C. acnes* по сравнению со способностью одного или нескольких штаммов бактерий к коагрегации с одним или несколькими непатогенными штаммами *C. acnes*.

Другой аспект настоящего изобретения относится к изделию, содержащему композицию согласно настоящему изобретению, для применения в качестве лекарственного средства.

Еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к изделию, содержащему композицию согласно настоящему изобретению, для применения с целью лечения; облегчения; подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов.

Дополнительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к изделию, содержащему композицию согласно настоящему изобретению, содержащую один или несколько видов бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *C. acnes*, для применения с целью лечения; облегчения; подавления; профилактики; и/или предотвращения *Acne vulgaris*.

Еще один дополнительный аспект изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько видов молочнокислых бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *C. acnes*, причем один или несколько видов молочнокислых бактерий могут быть выбраны из штамма бактерий, имеющего генетическую гомологию по меньшей мере 95% с одним или несколькими штаммами бактерий, выбранными из группы, состоящей из:

- LB356R (*Lactobacillus plantarum* LB356R, депонированного как DSM 33094)
- LB244R (*Lactobacillus plantarum* LB244R, депонированного как DSM 32996)
- LB349R (*Leuconostoc mesenteriodes* LB349R, депонированного как DSM 33093)
- LB10G (*Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906).

Еще один дополнительный аспект изобретения относится к использованию композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий для уменьшения или предотвращения прикрепления одного или нескольких штаммов *C. acnes* к поверхности и/или для уменьшения или предотвращения образования биопленки одного или нескольких

штаммов *C. acnes* на поверхности.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Перед более подробным обсуждением настоящего изобретения сначала будут определены следующие термины и условные обозначения:

Термин «риботип» относится к конкретным штаммам *C. acnes*. Характеристика риботипированных штаммов соответствует Fitz-Gibbon et al. J. Investigative Dermatology 133:2152-60 (2013).

Термин «филотип» относится к конкретным штаммам *C. acnes*. Характеристика филотипированных штаммов соответствует McDowell et al. PLoS ONE 8(9): e70897 (2013).

Термин «патогенные *C. acnes*» относится к риботипам и филотипам, связанным с заболеванием акне и инфицированной акне кожей.

«Терапевтическое эффективное количество» соединения в отношении рассматриваемого способа лечения относится к количеству соединений в препарате, которые при введении в качестве части требуемой схемы приема (для млекопитающего, предпочтительно, человека) ослабляет симптом, облегчает состояние или замедляет наступление болезненных состояний в соответствии с клинически приемлемыми стандартами для расстройства или состояния, подлежащего лечению, или с косметической целью, например, с разумным соотношением пользы и риска, применимым к любому медицинскому лечению.

В рамках настоящего изобретения термин «обработка» или «лечение» включает в себя изменение, уменьшение или прекращение симптомов, клинических признаков и определяющей патологии состояния таким образом, чтобы улучшить или стабилизировать состояние субъекта.

Соответственно, *C. acnes* является основным комменсалом кожи человека. Она способствует поддержанию здоровья кожи, подавляя вторжение распространенных патогенов, таких как *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*. Это происходит за счет гидролиза триглицеридов и высвобождения свободной жирной кислоты, которая способствует кислому pH поверхности кожи. С другой стороны, *C. acnes* исторически была связана с *Acne vulgaris*, хроническим воспалительным заболеванием пилосебацеального комплекса. Метагеномное исследование продемонстрировало, что *C. acnes* была доминирующей бактерией в пилосебацеальном комплексе как у здоровых людей, так и у пациентов с акне.

Было обнаружено, что на уровне штамма популяционный состав *C. acnes* различался между двумя группами штаммов. Эти данные свидетельствуют о том, что заболевания человека, связанные с микробами, часто вызывают определенные штаммы вида, а не целым видом, в соответствии с исследованиями других болезней. *C. acnes* был разделен на три различных типа, сначала были выявлены два различных фенотипа *C. acnes*, известные как типы I и II, которые можно было различить на основе серологических тестов агглютинации и анализа сахара в клеточной стенке. *C. acnes* I и II типов отличались типами моноклональных антител. Кроме того, их филогенетический анализ штаммов *C. acnes* на

основе нуклеотидных последовательностей гена *hcsA* и более вариабельного гена гемолизина/цитотоксина (*tly*) продемонстрировал, что типы I и II представляют разные клоны. Штаммы в пределах клона типа I могут быть далее разделены на две клады, известные как типы IA и IB, которые связаны с заболеванием акне. Позже была описана дополнительная филогенетическая группа *C. acnes*, известная как тип III. Недавние исследования, основанные на мультилокусном типировании последовательностей (MLST), дополнительно разделили *C. acnes* на близкородственные кластеры, некоторые из которых были связаны с различными заболеваниями, включая акне. Результаты проекта «Микробиом человека» (HMP) позволили получить знания о конкретных риботипах штаммов *C. acnes*, связанных со здоровьем и болезнями (McDowell et al. 2013, PLoS ONE 8(9): e70897, Dreno et al. 2018, JEADV 32(suppl. 2), 5-14. doi:10.1111/jdv.15043). Специфические риботипы *C. acnes*, как известно, не являются патогенными и являются частью естественной здоровой микробиоты кожи, другие специфические риботипы *C. acnes* считаются патогенными и доминирующими при инфекциях акне. Таким образом, было продемонстрировано, что RT4 и RT5 сильно связаны с акне, а RT6 связан со здоровой кожей. Другие штаммы *C. acnes*, включая риботипы RT7, RT8, RT9 и RT10, также могут способствовать развитию заболевания ((Fitz-Gibbon et al. 2013, J. Invest. Dermatol. 133:2152-60. doi:10.1038/jid.2013.21).

Кожа с акне не содержит больше *C. Acnes*, чем здоровая кожа, имеется дисбаланс между патогенными риботипами и непатогенными риботипами *C. acnes*.

Следовательно, предпочтительной была бы улучшенная противомикробная активность против патогенных *C. acnes*.

Настоящее изобретение относится к пробиотическим бактериям и композиции, содержащей пробиотические бактерии для использования с целью предотвращения или лечения инфекций от патогенных микроорганизмов, таких как инфекции *Cutibacterium acnes*.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что некоторые штаммы бактерий могут ингибировать рост патогенных риботипов *C. acnes*, тогда как рост непатогенных риботипов *C. acnes* затрагивают значительно меньше или не затрагивают совсем.

В варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько штаммов *C. acnes* предпочтительно могут представлять собой один или несколько патогенных штаммов *C. acnes*.

Один или несколько штаммов *C. acnes* или один или несколько патогенных штаммов *C. acnes* могут быть выбраны из риботипа RT4; риботипа RT5; риботипа RT7; риботипа RT8; риботипа RT9; и/или риботипа RT10 *Cutibacterium acnes*. Предпочтительно, один или несколько патогенных штаммов *C. acnes* могут быть выбраны из риботипа RT4; риботипа RT5; и/или риботипа RT8 *Cutibacterium acnes*.

В варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько штаммов *C. acnes* могут быть выбраны из группы, состоящей из *Cutibacterium acnes* HL110PA1;

Cutibacterium acnes HL053PA2; Cutibacterium acnes HL043PA1; и/или Cutibacterium acnes HL038PA1.

В настоящем изобретении представлены новые штаммы микроорганизмов и новые композиции, которые могут ингибировать рост патогенных *C. acnes*, не влияя на сухость и раздражение кожи.

В контексте настоящего изобретения термины «ингибировать» и «ингибирование» могут относиться к полному или частичному ингибированию.

Таким образом, предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *C. acnes*.

Предпочтительно, предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий, причем один или несколько штаммов бактерий проявляют более сильное ингибирование патогенных штаммов *C. acnes* по сравнению с непатогенными штаммами *C. acnes*.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что конкретные штаммы бактерий, в частности, конкретные штаммы молочнокислых бактерий проявляют более сильное действие в отношении патогенных штаммов *C. Acnes*, чем непатогенные штаммы *C. acnes*. Это открытие позволяет предоставить композицию, содержащую указанные конкретные штаммы бактерий, подходящие для лечения, облегчения, подавления; профилактики одного или нескольких патогенных штаммов *C. Acnes*.

Предпочтительно, ингибирование относится к ингибированию роста штаммов *C. acnes*, предпочтительно, ингибированию роста патогенных штаммов *C. acnes*; ингибированию коагрегации штамма *C. acnes*, предпочтительно, ингибированию коагрегации патогенных штаммов *C. acnes*; и/или ингибированию биопленки штамма *C. acnes*, предпочтительно, ингибированию биопленки патогенных штаммов *C. acnes*. Наиболее предпочтительно, ингибирование относится к ингибированию коагрегации штамма *C. acnes*, предпочтительно, ингибированию коагрегации патогенных штаммов *C. acnes*; и/или ингибированию биопленки штамма *C. acnes*, предпочтительно, ингибированию биопленки патогенных штаммов *C. acnes*.

В варианте осуществления настоящего изобретения композиция, содержащая один или несколько штаммов бактерий, может быть способна к более сильной коагрегации с одним или несколькими патогенными штаммами *C. acnes* по сравнению со способностью одного или нескольких штаммов бактерий к коагрегации с одним или несколькими непатогенными штаммами *C. acnes*.

Один или несколько штаммов бактерий предпочтительно могут представлять собой один или несколько штаммов молочнокислых бактерий.

Один или несколько штаммов бактерий (предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий) способны коагрегировать с сильной интенсивностью агрегации с одним или несколькими патогенными штаммами *C. acnes*. Путем визуального осмотра агрегации размер агрегации может быть определен как показатель интенсивности

агрегации с одним или несколькими патогенными штаммами *S. acnes*.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько штаммов бактерий (предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий) способны коагрегировать со слабой интенсивностью агрегации с одним или несколькими непатогенными штаммами *S. acnes*.

В еще более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция и/или один или несколько штаммов бактерий (предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий) способны коагрегировать с более сильной интенсивностью агрегации с одним или несколькими патогенными штаммами *S. acnes* по сравнению с интенсивностью агрегации с одним или несколькими непатогенными штаммами *S. acnes*.

Образование коагрегации можно визуально оценить от 1 до 5 (чем выше значение, тем сильнее интенсивность агрегации) с использованием следующей шкалы:

- 1: Без агрегации
- 2: Визуальная начальная агрегация
- 3: Образование агрегатов $< 0,5$ мм
- 4: Образование агрегатов $> 0,5$ мм и < 1 мм
- 5: Образование агрегатов > 1 мм

В варианте осуществления настоящего изобретения ингибирование патогенных штаммов *S. acnes* сильнее на 10% или более по сравнению с ингибированием непатогенных штаммов *S. acnes*, например, сильнее на 15% или более, например, сильнее на 20% или более, например, сильнее на 30% или более, например, сильнее на 40% или более, например, сильнее на 50% или более, например, сильнее на 75% или более, например, сильнее на 100% или более, например, сильнее на 150% или более, например, сильнее на 200% или более, например, сильнее на 300% или более.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения ингибирование непатогенных штаммов *S. acnes* составляет 90% или менее от ингибирования патогенных штаммов *S. acnes*, например, 80% или менее, например, 70% или менее, например, 60% или менее, например, 50% или менее, например, 40% или менее, например, 30% или менее, например, 20% или менее.

В контексте настоящего изобретения термины «более сильный» или «более интенсивный» использованы взаимозаменяемо и относятся к усиленному воздействию на непатогенные штаммы *S. acnes* по сравнению с непатогенными штаммами *S. acnes*, например, в отношении коагрегации, где более сильное действие может приводить к образованию более крупных агрегатов, содержащих патогенные штаммы *S. Acnes*, по сравнению с размером образованных агрегатов, содержащих непатогенные штаммы *S. acnes*. Что касается образования биопленки более сильное действие может приводить к образованию более мелкой биопленки с уменьшенным количеством патогенных штаммов *S. acnes* и/или образованию биопленки с более высоким соотношением непатогенных штаммов *S. acnes* по сравнению с патогенными штаммами *S. acnes*. Что касается

усиленного воздействия на рост, более сильное действие может приводить к усиленному ингибированию роста патогенных штаммов *S. acnes* по сравнению с ростом непатогенных штаммов *S. acnes*.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что за счет улучшения коагрегации штаммов *S. Acnes*, обеспечиваемой с помощью настоящего изобретения, образование биопленки на поверхности может быть ограничено, уменьшено или предотвращено. Образование биопленки начинается с прикрепления свободно плавающих микроорганизмов к поверхности. Если не предотвратить прикрепление этих первых колонистов к поверхности, они сами могут более прочно прикрепиться к поверхности и обеспечить прикрепление других микроорганизмов, и сообщество может расти, и получается биопленка.

Композиция согласно настоящему изобретению неожиданно продемонстрировала способность ограничивать, уменьшать или предотвращать:

- 1) начальное прикрепление первых колонистов штаммов *S. acnes* к поверхности; и/или
- 2) прикрепление штаммов *S. acnes* к заселенным микроорганизмам.

Считается, что одна из способностей *S. acnes* вызывать заболевания или инфекции может быть связана с прикреплением к поверхностям человеческих клеток и иницированием биопленки *S. acnes*. Такое образование биопленки *S. acnes* значительно затрудняет предотвращение или лечение инфекции, поскольку образование биопленки защищает бактерии *S. acnes* от противомикробной активности.

Образование биопленок патогенных *S. acnes* может обеспечивать внутреннюю устойчивость к штамму *S. acnes*, которая представляет собой врожденную способность вида бактерий сопротивляться активности конкретного противомикробного агента благодаря присущим ему структурным или функциональным характеристикам, которые позволяют переносить конкретное лекарство или противомикробное соединение.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что штаммы бактерий согласно настоящему изобретению, например, штаммы молочнокислых бактерий согласно настоящему изобретению были способны предотвращать первоначальное связывание *S. acnes* с поверхностью и ингибировать последующее образование биопленки.

В варианте осуществления настоящего изобретения штаммы бактерий согласно настоящему изобретению, например, штаммы молочнокислых бактерий согласно настоящему изобретению, могут быть способны первоначальное связывание *S. acnes* с поверхностью и ингибировать последующее образование биопленки.

Предпочтительно, поверхность может быть выбрана из клетки тела млекопитающего, например, тела человека, причем телом может быть кожа или слизистые оболочки млекопитающего, например, человека.

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий, способных ингибировать, уменьшать, ограничивать и/или предотвращать прикрепление одного или

нескольких штаммов *S. asnes* к поверхности и/или ингибировать, уменьшать, ограничивать и/или предотвращать образование биопленки одного или нескольких штаммов *S. asnes* на поверхности.

Предпочтительно, ингибирование, уменьшение, ограничение и/или предотвращение прикрепления одного или нескольких штаммов *S. asnes* и/или образования биопленки на поверхности может относиться к одному или нескольким патогенным штаммам *S. asnes*.

Прикрепление и/или образование биопленки одного или нескольких штаммов *S. asnes*, предпочтительно, одного или нескольких патогенных штаммов *S. asnes*, к поверхности может быть уменьшено на 15% (м/м) или более по сравнению с образцами, где не добавляли штаммы бактерий, например, на 25% (м/м) или более, например, на 50% (м/м) или более, например, на 75% (м/м) или более, например, на 90% (м/м) или более, например, на 95% (м/м) или более, например, на 98% (м/м) или более.

В варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько штаммов бактерий (предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий) способны коагрегировать с сильной интенсивностью агрегации от 4 до 5 (по шкале 1-5) через 1 час и/или через 24 часа. Предпочтительно, один или несколько штаммов бактерий (предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий) способны коагрегировать с сильной интенсивностью агрегации через 1 час. сильная интенсивность агрегации может иметь оценку от 4 до 5 (по шкале 1-5).

Чем быстрее образуется сильная коагрегация, тем лучше и, например, специфичнее может быть один или несколько патогенных штаммов *S. asnes*.

С другой стороны, один или несколько штаммов бактерий, предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий, могут коагрегировать с одним или несколькими непатогенными штаммами *S. asnes*. Такая коагрегация с одним или несколькими непатогенными штаммами *S. asnes* может считаться слабой интенсивностью агрегации.

В варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько штаммов бактерий (предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий) способны коагрегировать со слабой интенсивностью агрегации, значение 1-3 (по шкале 1-5) через 1 час и/или через 24 часа.

Поскольку существует значительная разница в коагрегации одного или нескольких штаммов бактерий согласно настоящему изобретению с патогенными штаммами *S. asnes* и с непатогенными штаммами *S. asnes*, причем наиболее сильная коагрегация обнаружена между одним или несколькими штаммами бактерий и патогенными штаммами *S. asnes*, авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что имеется возможность лечения; ослабления, подавления; профилактики; и/или предотвращения развития у млекопитающих *Acne vulgaris*, вызванных патогенными штаммами *S. asnes*. В то же время авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что может быть возможно одновременно сохранять непатогенные штаммы *S. asnes* (или их часть) как часть здоровой микробиоты кожи.

В варианте осуществления настоящего изобретения одним или несколькими штаммами молочнокислых бактерий может быть штамм *Lactobacillus*; штамм *Leuconostoc*; и/или штамм *Weissella*. Предпочтительно, штаммами бактерий может быть штамм *Lactobacillus*.

Предпочтительно, штамм *Lactobacillus* может быть выбран из *Lactobacillus planetarium*. В варианте осуществления настоящего изобретения *Lactobacillus planetarium* может быть выбран из *Lactobacillus planetarium* LB356R, депонированного как DSM 33094, или из *Lactobacillus planetarium* LB244R, депонированного как DSM 32996.

Предпочтительно, штамм *Leuconostoc* может быть выбран из *Leuconostoc mesenteriodes*. В варианте осуществления настоящего изобретения *Leuconostoc mesenteriodes* может быть выбран из *Leuconostoc mesenteriodes* LB349A, депонированного как DSM 33093.

Предпочтительно, штамм *Weissella* может быть выбран из *Weissella viridescens*. В варианте осуществления настоящего изобретения *Weissella viridescens* может быть выбран из *Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения одним или несколькими штаммами молочнокислых бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *S. acnes*, может быть комбинация:

- *Lactobacillus planetarium*, предпочтительно, выбранного из *Lactobacillus planetarium* LB356R, депонированного как DSM 33094, и/или из *Lactobacillus planetarium* LB244R, депонированного как DSM 32996;

- *Leuconostoc mesenteriodes*, предпочтительно, выбранного из *Leuconostoc mesenteriodes* LB349A, депонированного как DSM 33093; и/или

- *Weissella viridescens*, предпочтительно, выбранного из *Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906.

Предпочтительно, один или несколько видов молочнокислых бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *S. acnes*, могут быть выбраны из штамма бактерий, имеющего генетическую гомологию по меньшей мере 95% с одним или несколькими штаммами бактерий, выбранными из группы, состоящей из:

- LB356R (*Lactobacillus plantarum* LB356R, депонированного как DSM 33094)
- LB244R (*Lactobacillus plantarum* LB244R, депонированного как DSM 32996)
- LB349R (*Leuconostoc mesenteriodes* LB349R, депонированного как DSM 33093)
- LB10G (*Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906).

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько видов молочнокислых бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *S. acnes*, один или несколько видов молочнокислых бактерий могут быть выбраны из штамма бактерий, имеющего генетическую гомологию по меньшей мере 95% с одним или несколькими штаммами бактерий, выбранными из группы, состоящей из:

- LB356R (*Lactobacillus plantarum* LB356R, депонированного как DSM 33094)

- LB244R (*Lactobacillus plantarum* LB244R, депонированного как DSM 32996)
- LB349R (*Leuconostoc mesenteriodes* LB349R, депонированного как DSM 33093)
- LB10G (*Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько видов молочнокислых бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *C. acnes*, могут быть выбраны из штамма бактерий, имеющего генетическую гомологию 96%; например, по меньшей мере 97%; например, по меньшей мере 98%; например, по меньшей мере 99%; например, по меньшей мере 99,5%; например, по меньшей мере 99,8%; например, по меньшей мере 99,9%; например, 100% (идентичного) одному из штаммов бактерий выбранный из группы, состоящей из:

- LB356R (*Lactobacillus plantarum* LB356R, депонированного как DSM 33094)
- LB244R (*Lactobacillus plantarum* LB244R, депонированного как DSM 32996)
- LB349R (*Leuconostoc mesenteriodes* LB349R, депонированного как DSM 33093)
- LB10G (*Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906).

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько видов молочнокислых бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *C. acnes*, могут быть выбраны из штамма бактерий, выбранного из группы, состоящей из:

- LB356R (*Lactobacillus plantarum* LB356R, депонированного как DSM 33094)
- LB244R (*Lactobacillus plantarum* LB244R, депонированного как DSM 32996)
- LB349R (*Leuconostoc mesenteriodes* LB349R, депонированного как DSM 33093)
- LB10G (*Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906).

В настоящем контексте термин «генетическая гомология» относится к отклонению генетической последовательности штамма бактерий по сравнению с депонированными штаммами бактерий.

Действие штамма бактерий (и/или композиции) согласно настоящему изобретению на патогенные микроорганизмы может быть значительным.

Композиция согласно настоящему изобретению может быть способна ингибировать рост *Cutibacterium acnes*. В варианте осуществления настоящего изобретения рост патогенных *C. acnes* может быть уменьшен по меньшей мере на 20%; например, уменьшен по меньшей мере на 30%, например, уменьшен по меньшей мере на 40%; например, уменьшен по меньшей мере на 50%, например, уменьшен по меньшей мере на 60%.

В предпочтительном варианте осуществления штаммом бактерий согласно настоящему изобретению может быть выделенный штамм бактерий.

В настоящем изобретении раскрыты микроорганизмы, которые связаны функциональными отношениями друг с другом, что образует единую идею согласно изобретению, так что они разделяют свойства и/или эффекты, а именно то, что они подавляют рост патогенных микроорганизмов, таких как *C. acnes* и/или снижают уровень колонизации патогенных микроорганизмов, таких как *C. acnes*, связанных с кожными заболеваниями. Эти молочнокислые бактерии включают, в частности, микроорганизмы или

аналоги, фрагменты, лизаты, производные, мутанты или их комбинации, выбранные из группы, включающей следующие новые выделенные микроорганизмы, депонированные в Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур:

- LB356R (*Lactobacillus plantarum* LB356R, депонированного как DSM 33094)
- LB244R (*Lactobacillus plantarum* LB244R, депонированного как DSM 32996)
- LB349R (*Leuconostoc mesenteriodes* LB349R, депонированного как DSM 33093)
- LB10G (*Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906).

Настоящее изобретение включает в себя композицию, содержащую по меньшей мере одну из этих новых молочнокислых бактерий и композиций, содержащих любую комбинацию этих штаммов и их аналогов, фрагментов, лизатов, производных, мутантов.

Инфекции акне могут сочетаться со *Staphylococcus*, например, *Staphylococcus aureus*, который может усугубить заболевание.

В варианте осуществления настоящего изобретения композиция согласно настоящему изобретению может также обладать противомикробной активностью, в частности, изобретение относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий и обладающей противомикробной активностью против *Staphylococcus*, связанного с совместной инфекцией с *acnes*.

В контексте настоящего изобретения термин «штаммы бактерий» относится к штаммам бактерий согласно настоящему изобретению. Предпочтительно, термин штаммы бактерий относится к штаммам молочнокислых бактерий согласно настоящему изобретению.

В контексте настоящего изобретения термин «коагрегация» относится к агрегации патогенных бактерий, таких как патогенные штаммы *C. Acnes*, наряду с другими бактериями, а именно одним или несколькими штаммами бактерий, например, штаммами молочнокислых бактерий согласно настоящему изобретению.

Предпочтительно, коагрегация может быть ясно видна для человеческого глаза.

В варианте осуществления настоящего изобретения при коагрегации образуются агрегаты в течение 24 часов с размером частиц агрегата более 0,1 мм; например, более 0,25 мм; например, более 0,5 мм; например, более 0,75 мм; например, более 1,0 мм; например, в диапазоне 0,1-0,5 мм; предпочтительно, в диапазоне 0,5-1,0 мм; еще более предпочтительно, более 1,0 мм.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения при коагрегации в течение 1 часа образуются агрегаты с размером частиц агрегата более 0,1 мм; например, более 0,25 мм; например, более 0,5 мм; например, более 0,75 мм; например, более 1,0 мм; например, в диапазоне 0,1-0,5 мм; предпочтительно, в диапазоне 0,5-1,0 мм; еще более предпочтительно, более 1,0 мм.

Еще один аспект настоящего изобретения относится к композиции согласно настоящему изобретению для применения с целью лечения; облегчения, подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов.

Авторы настоящего изобретения представляют терапевтическую композицию для

лечения или предотвращения заражения, содержащую терапевтически эффективную концентрацию одного или нескольких штаммов бактерий в фармацевтически приемлемом носителе, подходящем для введения в желудочно-кишечный тракт млекопитающего и/или для местного нанесения на кожу или слизистые оболочки млекопитающего, причем указанный один или нескольких штаммов бактерий обладают способностью ингибировать рост патогенов, скорость колонизации и начальное прикрепление патогена к месту заражения.

В варианте осуществления настоящего изобретения композицией может быть композиция для местного применения (для местного лечения) или пероральная композиция (для перорального применения) или ректальная композиция (для ректального применения). Предпочтительно, композицией может быть композиция для местного применения, предпочтительно, композиция для местного применения с целью местного лечения *Acne vulgaris*.

Лечение акне согласно настоящему изобретению может представлять собой комбинированное лечение, включающее местное лечение и пероральное лечение.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция может быть дерматологической композицией для местного применения.

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий согласно настоящему изобретению.

Концентрация штамма бактерий, предпочтительно, одного или нескольких жизнеспособных штаммов, может быть в диапазоне от 10^3 до 10^{14} колониеобразующих единиц (КОЕ); например, в диапазоне 10^5 - 10^{13} КОЕ; например, в диапазоне 10^6 - 10^{12} КОЕ; например, в диапазоне 10^7 - 10^{11} КОЕ; например, в диапазоне 10^8 - 10^{10} КОЕ; например, примерно 10^9 КОЕ.

Концентрация штамма бактерий, предпочтительно, одного или нескольких мертвых/инактивированных штаммов, лизата одного или нескольких штаммов; метаболитов одного или нескольких штаммов может быть в диапазоне концентраций от 0,001% (м/м) до 20% (м/м) по сравнению с композицией для местного применения; например, в диапазоне от 0,01% (м/м) до 18% (м/м); например, в диапазоне от 0,1% (м/м) до 15% (м/м); например, в диапазоне от 0,5% (м/м) до 10% (м/м); например, в диапазоне от 1% (м/м) до 5% (м/м).

Штаммы бактерий согласно определению настоящего документа могут быть представлены в композиции согласно настоящему изобретению в виде мертвого штамма бактерий. мертвый штамм бактерий может быть представлен в виде целых мертвых клеток или в виде лизатов, метаболитов, производных, аналогов, фракций или экстрактов, полученных из мертвых клеток.

В варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько штаммов бактерий могут быть представлены в виде одного или нескольких жизнеспособных штаммов, одного или нескольких мертвых или инактивированных штаммов, лизата одного

или нескольких штаммов; метаболитов одного или нескольких штаммов или их комбинаций.

Предпочтительно, лизат штамма может быть получен с помощью обработки кислотой, например, с использованием HCl, и/или с помощью обработки ультразвуком.

В композиции штамм бактерий согласно настоящему изобретению может быть представлен в виде одного или нескольких жизнеспособных штаммов, одного или нескольких мертвых или инактивированных штаммов, лизата одного или нескольких штаммов; метаболитов одного или нескольких штаммов; одного или нескольких аналогов, одного или нескольких фрагментов, одной или нескольких производных, одного или нескольких мутантов или их комбинаций, причем лизаты; метаболиты одного или нескольких штаммов; один или несколько аналогов, один или несколько фрагментов, одно или несколько производных, один или несколько мутантов или их комбинации (полученных из штаммов бактерий согласно настоящему изобретению) могут быть предназначены для лечения; ослабления; подавления; профилактики; и/или предотвращения роста по меньшей мере одного патогенного микроорганизма, например, *S. acnes*.

S. acnes является нормальным обитателем микробиома кишечника человека и колонизирует кишечник. Таким образом, колонизация кишечника патогенными риботипами может также влиять на микробиоту кожи, и, следовательно, пробиотические бактерии с противомикробной активностью против *S. acnes* можно с успехом использовать в качестве пероральной композиции.

В варианте осуществления настоящего изобретения, в котором композицией может быть композиция для местного применения и/или пероральная композиция, предпочтительно, композиция представляет собой композицию для местного применения.

В варианте осуществления настоящего изобретения, в котором композицией может быть композиция для местного применения и/или пероральная композиция, предпочтительно, композиция представляет собой пероральную композицию.

В варианте осуществления настоящего изобретения композиция может иметь кислое значение pH, предпочтительно, значение pH композиции составляет pH 6,5 или ниже; например, pH 6 или ниже; например, pH 5,5 или ниже; например, pH 5 или ниже; например, pH 4,5 или ниже; например, в диапазоне pH 4-6,5; например, в диапазоне pH 4,5-6,0; например, в диапазоне pH 4,7-5,5.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения при нанесении на поверхность, например, на кожу человека, композиция может приводить к кислому значению pH поверхности (кожи), предпочтительно, значение pH составляет pH 6,5 или ниже; например, pH 6 или ниже; например, pH 5,5 или ниже; например, pH 5 или ниже; например, pH 4,5 или ниже; например, в диапазоне pH 4-6,5; например, в диапазоне pH 4,5-6,0; например, в диапазоне pH 4,7-5,5.

Композиция согласно настоящему изобретению может предпочтительно содержать фармацевтически или косметически приемлемый носитель или вспомогательное средство.

В варианте осуществления настоящего изобретения композиция может быть представлена в твердой форме, жидкой форме, вязкой форме, эмульсии или в высушенной форме.

Композиция для перорального приема предпочтительно может быть приготовлена в виде пасты, мягкой желатиновой капсулы, твердой желатиновой капсулы, порошка, присыпки, гранулы, шарика, пастилы, шипучей таблетки, пастилок, буккальных таблеток, жевательных таблеток, сублингвальных таблеток, масла, жидкости, раствора, настойки, эмульсии, сока, концентрата, сиропа, спрея, аэрозоля, питьевой ампулы, геля, жевательной резинки, таблетки, таблетки с покрытием или в виде продукта питания, корма или напитка.

Композиция для местного применения предпочтительно может быть приготовлена в виде пасты; присыпки; порошка; лосьона; бальзама; пены; крема; масла, сыворотки или мази.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения композиция для местного применения может представлять собой порошковую композицию, содержащую гидратированный силикат магния (присыпку) и по меньшей мере один из штаммов бактерий изобретения.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения порошковая композиция для местного применения содержит гидратированный силикат магния, по меньшей мере один углевод и по меньшей мере один из штаммов бактерий согласно настоящему изобретению.

В предпочтительном варианте осуществления композиция для местного применения может быть приготовлена в виде лосьона; бальзама; пены; крема; мази, масла, сыворотки, геля или эмульсии.

В предпочтительном варианте осуществления композиция для местного применения представляет собой растительное масло.

В предпочтительном варианте осуществления лечение представляет собой комбинированное лечение как местной композицией, так и пероральной композицией, содержащей штаммы бактерий согласно настоящему изобретению.

Композиция может, помимо штаммов бактерий согласно настоящему изобретению, дополнительно содержать другие пробиотики, пребиотики, противомикробные средства, антибиотики или другие активные антибактериальные вещества и/или может предпочтительно также содержать одно или несколько из следующих веществ, выбранных из антиоксидантов, витаминов, коферментов, жирных кислот, аминокислот и кофакторов.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения штаммы бактерий согласно настоящему изобретению можно комбинировать с:

- терапевтически эффективной дозой антибиотика. Либо в качестве сопутствующего лечения, либо после лечения антибиотиками;

- терапевтической концентрацией антибиотика, включая, но без ограничения: фузидиевую кислоту; ванкомицин; гентамицин; оксациллин; тетрациклины; нитрофлурантоин; хлорамфеникол; клиндамицин; триметоприм-сульфаметоксазол; член семейства антибиотиков цефлоспоринов (например, цефаклор, цефадроксил, цефиксим,

цефпрозил, цефтриаксон, цефуроксим, цефалексин, лоракарбеф и тому подобное); член семейства антибиотиков пенициллина (например, ампициллин, амоксициллин/клавуланат, бакампициллин, клоксициллин, пенициллин VK и тому подобное); с членом семейства антибиотиков фторхинолонов (например, ципрофлоксацином, грепафлоксацином, левофлоксацином, ломефлоксацином, норфлоксацином, офлоксацином, спарфлоксацином, тровафлоксацином и тому подобное); или член семейства макролидных антибиотиков (например, азитромицин, эритромицин и тому подобное);

- терапевтически эффективной дозой противовоспалительного препарата. Либо в качестве совместного лечения, либо после терапии; и/или

- терапевтической концентрацией противовоспалительного препарата.

В варианте осуществления настоящего изобретения композиция может быть фармацевтическим, ветеринарным или пищевым продуктом, или пищевой добавкой, или композицией пищевых добавок. Композиция (предпочтительно для перорального введения) может предпочтительно содержать один или несколько загустителей, и/или один или несколько подсластителей, и/или один или несколько искусственных подсластителей, причем загуститель предпочтительно выбирают из эфира целлюлозы, полисахаридов, выбранных из группы, включающей ксантановую камедь, желатин, высокодисперсный диоксид кремния, крахмал, каррагенаны, альгинаты, трагакант, агар, гуммиарабик, пектин и поливиниловые эфиры, а подсластитель выбирают из группы, включающей глюкозу, фруктозу, сахарозу, сироп глюкозы, сорбит, маннит, ксилит, мальтит, стевию, сахарин, цикламат натрия, ацесульфам К и/или аспартам.

Предпочтительные пищевые продукты и пищевые добавки по смыслу изобретения могут включать шипучие таблетки, витаминные таблетки, диетические добавки, минеральные таблетки, таблетки с микроэлементами, порошки для напитков, напитки, соки, молочные напитки, йогурты, минеральную воду, негазированную воду, конфеты, жевательные таблетки, таблетки, сок или сироп, таблетки, покрытые оболочкой, пастилки, а также аэрозоли.

Кроме того, композиция также может содержать модифицирующие добавки, ферменты, электролиты, регуляторы pH, загустители, пребиотики, оптические осветлители, ингибиторы изменения окраски на серую, регуляторы пенообразования и/или красители.

Нигде в предшествующем уровне техники не было раскрыто использование пробиотических штаммов для предотвращения или лечения инфекций, вызванных специфической патогенной инфекцией акне, вызванной патогенными риботипами *C. acnes*.

Совершенно удивительно, что удалось идентифицировать группу молочнокислых бактерий, которые обладали идентичными полезными свойствами. Никакие бактерии, в частности молочнокислые бактерии, не сочетают в себе эти свойства лечения; ослабления, подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов, при этом они не являются патогенными и не вызывают какого-либо повреждения или воздействия на кожу или микробиоту.

Следует понимать, что далее предпочтительные варианты осуществления,

упомянутые в отношении одного широкого аспекта изобретения, в равной степени применимы к каждому из других широких аспектов настоящего изобретения, описанных выше. Также будет понятно, что, если из контекста не следует иное, предпочтительные варианты осуществления, описанные ниже, могут быть объединены. При использовании в данном документе термин «местный» включает ссылки на составы, адаптированные для нанесения на поверхности тела (например, кожу или слизистые оболочки).

Вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции согласно настоящему изобретению для применения с целью лечения; облегчения, подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов.

Вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции согласно настоящему изобретению для использования при заживлении шрамов и ран, вызванных бактериальной инфекцией.

Более предпочтительно, в настоящем изобретении может быть представлена композиция согласно определению настоящего документа для применения с целью лечения, облегчения, подавления; профилактики одной или нескольких патогенных бактериальных инфекций у млекопитающих.

Более предпочтительно, в настоящем изобретении может быть представлена композиция согласно определению настоящего документа для использования с целью предотвращения роста патогенных микроорганизмов.

Предпочтительно бактериальной инфекцией может быть инфекция *C. acnes* у млекопитающих.

Вариант осуществления настоящего изобретения относится к композиции согласно определению настоящего документа для применения с целью лечения; облегчения; подавления; и/или профилактики заболеваний, обусловленных инфекцией *C. Acnes*.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция, содержащая по меньшей мере один из штаммов бактерий (или их лизатов, метаболитов, производных, аналогов, фракций или экстрактов) для лечения кожных инфекций, вызванных *C. acnes*.

Вариант осуществления предпочтительного изобретения относится к композиции для использования в качестве профилактики или лечения инфекций *C. acnes*.

Микроорганизмы могут преимущественно быть представлены в композиции в жизнеспособной или убитой/мертвой форме. Штамм бактерий может быть представлен в инкапсулированной, микрокапсулированной, высушенной распылением и/или лиофилизированной форме. Кроме того, штамм бактерий может быть представлен в форме лизата, метаболитов, производных, аналогов, фракций или экстрактов клеток.

Микроорганизмы могут преимущественно быть представлены в композиции в жизнеспособной форме. Штамм бактерий может быть представлен в масляной готовой форме в инкапсулированной, микрокапсулированной, высушенной распылением и/или лиофилизированной форме.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения масло представляет

собой растительное масло, выбранное из миндального масла, конопляного масла, масла CBD, масла каннабиса, вечерней примулы, масла огуречника, миндального сладкого масла, масла шиповника, масла жожоба золотого, масла жожоба, масла ромашки, масла календулы, масла облепихи, масла яффлера и кунжутного масла.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере одно масло, выбранное из миндального масла, конопляного масла, масла CBD, масла каннабиса, вечерней примулы, масла огуречника, миндального сладкого масла, масла шиповника, масла жожоба золотого, масла жожоба, масла ромашки, масла календулы, масла облепихи, яффлорового масла и/или кунжутного масла.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере 10% (м/м) масла жожоба или воска жожоба или масла жожоба золотого.

В варианте осуществления настоящего изобретения штамм бактерий может быть представлен в композиции в количестве по массе от 0,001% (м/м) до 20% (м/м) в отношении композиции для местного применения; например, в диапазоне от 0,01% (м/м) до 18% (м/м); например, в диапазоне от 0,1% (м/м) до 15% (м/м); например, в диапазоне от 0,5% (м/м) до 10% (м/м); например, в диапазоне от 1% (м/м) до 5% (м/м).

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения предусматривает введение приблизительно от 1×10^3 до 1×10^{14} КОЕ жизнеспособных бактерий в день, более предпочтительно, приблизительно от 1×10^4 до 1×10^{10} и наиболее предпочтительно, приблизительно от 5×10^4 до 1×10^9 КОЕ жизнеспособных бактерий в день. Если заболевание, подлежащее лечению, связано с патогенами, устойчивыми к антибиотикам, и пациент является взрослым, обычная доза составляет приблизительно от 1×10^2 до 1×10^{14} КОЕ жизнеспособных бактерий в день, предпочтительно, приблизительно от 1×10^8 до 1×10^{10} и более предпочтительно, приблизительно от $2,5 \times 10^8$ до 1×10^{10} КОЕ жизнеспособных бактерий в день.

Настоящее изобретение относится к новым штаммам бактерий, и общая ссылка в формуле изобретения относится к жизнеспособным клеткам, мертвым/убитым клеткам и их лизатам, метаболитам, производным, аналогам, фракциям или экстрактам, а также к композициям, содержащим такие жизнеспособные клетки, мертвые/убитые клетки и их лизаты, метаболиты, производные, аналоги, фракции или экстракты.

Композиция согласно настоящему изобретению может подходить для лечения; ослабления, подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов, таких как *S. asnes*, у детей, подростков, здоровых людей, женщин, пожилых людей, людей с ослабленным иммунитетом, людей с единичными или повторяющимися инфекциями *S. asnes* и/или у людей с устойчивыми к антибиотикам бактериальными инфекциями.

Соответственно, композиция согласно настоящему изобретению может быть использована для приготовления фармацевтического препарата, который полезен для лечения или предотвращения роста *S. asnes*. В одном варианте осуществления настоящего изобретения композицию можно использовать в лечебных или профилактических целях,

например, в комбинации с пробиотической и/или пребиотической композицией.

Комбинация композиции согласно настоящему изобретению и пробиотического штамма обеспечивает комбинированную композицию, способную ингибировать рост *C. Asnes* в совместной культуре за счет снижения роста *C. asnes* по меньшей мере на 50% по сравнению с ростом без штамма бактерий. При этом рост измеряют в виде колониеобразующих единиц *C. asnes*.

В варианте осуществления настоящего изобретения штамм бактерий согласно определению настоящего документа может быть единственными бактериями, присутствующими в композиции. Композиция, содержащая только штаммы бактерий согласно определению настоящего документа, демонстрирует снижение роста *C. asnes* по меньшей мере на 50% по сравнению с ростом без штамма бактерий.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько штаммов бактерий согласно определению настоящего документа составляют по меньшей мере 10% (м/м) общего содержания бактерий в композиции; например, по меньшей мере 25% (м/м); например, по меньшей мере 50% (м/м); например, по меньшей мере 75% (м/м); например, по меньшей мере 85% (м/м); например, по меньшей мере 90% (м/м); например, по меньшей мере 95% (м/м); например, по меньшей мере 98% (м/м); например, по меньшей мере 100% (м/м).

«Снижение» роста может быть «статистически значимым» по сравнению с периодом роста без штаммов бактерий согласно настоящему изобретению и может составлять снижение на 1 процент, 2 процента, 3 процента, 4 процента, 5 процентов, 6 процентов, 7 процентов, 8 процентов, 9 процентов, 10 процентов, 11 процентов, 12 процентов, 13 процентов, 14 процентов, 15 процентов, 16 процентов, 17 процентов, 18 процентов, 19 процентов, 20 процентов, 25 процентов, 30 процентов, 35 процентов, 40 процентов, 45 процентов, 50 процентов, 55 процентов, 60 процентов, 65 процентов, 70 процентов, 75 процентов, 80 процентов, 85 процентов, 90 процентов, 95 процентов или 100 процентов.

В варианте осуществления настоящего изобретения ингибирование роста может быть определено как снижение роста по меньшей мере на 25 процентов. Предпочтительно, ингибирование роста определяют, как снижение роста по меньшей мере на 50 процентов. Еще более предпочтительно, ингибирование роста определяют, как снижение роста по меньшей мере на 90 процентов.

«Снижение» количества микроорганизмов может быть «статистически значимым» по сравнению с количеством КОЕ/мл в отсутствие штаммов бактерий согласно настоящему изобретению и может составлять снижение на 10 процентов, 15 процентов, 20 процентов, 25 процентов, 30 процентов, 35 процентов, 40 процентов, 45 процентов, 50 процентов, 55 процентов, 60 процентов, 65 процентов, 70 процентов, 75 процентов, 80 процентов, 85 процентов, 90 процентов, 95 процентов, 97 процентов, 99 процентов, 99,9 процентов или 100 процентов.

Количество микроорганизмов измеряют в виде колониеобразующих единиц КОЕ/мл.

Микроорганизмы согласно настоящему изобретению могут предпочтительно находиться в выделенной или очищенной форме, причем термин «выделенные» означает, в частности, что молочнокислые бактерии происходят из их культуральной среды, включая, например, их естественную среду. Термин «очищенный» не ограничен абсолютной чистотой.

В одном варианте настоящего изобретения пробиотический штамм можно использовать в качестве живых выделенных микроорганизмов в стабилизированной форме. Подходящие методы стабилизации известны специалистам в данной области и включают сублимационную сушку или лиофилизацию с использованием различных криопротекторов.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения штамм можно использовать как живой выделенный штамм.

Предпочтительно штамм можно использовать как живой выделенный стабилизированный штамм. Еще более предпочтительно штамм можно использовать как живой выделенный штамм, стабилизированный лиофилизацией. Еще более предпочтительно, штамм можно использовать как живой выделенный штамм, стабилизированный лиофилизацией и содержащий криопротектор.

Настоящее изобретение относится к штаммам бактерий, которые являются жизнеспособными и/или мертвыми (убитыми), обе формы могут быть включены в объем настоящего изобретения.

Подходящие методы уничтожения (например, биологические, химические или физические методы уничтожения) достаточно известны специалистам в данной области. Однако в данном случае штаммы бактерий также можно использовать в лиофилизированной форме. Убитые формы микроорганизмов могут включать ферментационный бульон и любые присутствующие метаболиты.

Термины «убитый» или «мертвый» относятся к инактивированным молочнокислым бактериям, неспособным к делению клеток и без какой-либо метаболической активности. Мертвые или убитые молочнокислые бактерии могут иметь неповрежденные или разорванные клеточные мембраны.

«Лизаты», «производные», «аналоги», «фракции» или «экстракты» могут быть получены из мертвых или убитых молочнокислых бактерий. Эти лизаты, фракции, производные, аналоги и экстракты предпочтительно обладают свойствами уменьшения передачи патогенного микроорганизма между поверхностью первого субъекта и поверхностью второго субъекта, причем «лизат», а также термин «экстракт» относится, в частности, к раствору или суспензии в водной среде клеток микроорганизма согласно изобретению и включает, например, макромолекулы, такие как ДНК, РНК, белки, пептиды, липиды, углеводы и так далее, а также клеточный детрит. Лизат предпочтительно содержит клеточную стенку или компоненты клеточной стенки, включая связывающие рецепторы. Способы получения лизатов достаточно хорошо известны специалистам в данной области и включают, например, использование «французского пресса» или ферментативного лизиса, шаровой мельницы со стеклянными шариками или железными шариками. Клетки

можно разрывать с помощью ферментативных, физических или химических методов. Примеры ферментативного лизиса клеток могут включать отдельные ферменты, а также ферментные коктейли, например, протеазы, протеиназу К, липазы, гликозидазы; химический лизис может быть вызван ионофорами, детергентами, такими как SDS, кислоты или основания; физические методы также могут быть реализованы с использованием высоких давлений, например, френч-пресс, осмолярности, температуры или чередования тепла и холода. Кроме того, конечно, можно комбинировать химические, физические и ферментативные методы.

В предпочтительном варианте осуществления композиция и/или штаммы бактерий согласно настоящему изобретению подходят для лечения; облегчения, подавления; профилактики заболевания, связанного с заражением патогенными микроорганизмами у млекопитающих.

Настоящее изобретение также относится к способу снижения количества *C. acnes* на коже пациента с инфекцией *acnes*.

В варианте осуществления изобретения композицию, содержащую по меньшей мере один штамм бактерий, можно использовать для регулирования количества *C. acnes* на коже пациентов с воспалительными заболеваниями кожи до уровня, когда *C. acnes* не приводит к заражению кожи.

В еще одном варианте осуществления изобретения композицию, содержащую по меньшей мере один штамм бактерий, можно использовать для регулирования количества *C. acnes* на коже пациентов с воспалительными заболеваниями кожи, когда уровень *C. acnes* ниже приблизительно 10^7 КОЕ/см³ кожи.

Специалистам в данной области будет ясно, что в данном случае, а также во всех формулировках диапазона, приведенных в настоящем изобретении, охарактеризованных такими терминами, как «примерно» или «приблизительно», нет необходимости указывать точный числовой диапазон с такими выражениями, как «около» или «примерно», или «приблизительно», но вместо этого даже незначительные отклонения вверх или вниз относительно указанного числа все еще находятся в пределах объема настоящего изобретения. В варианте осуществления настоящего изобретения незначительное отклонение может включать отклонение 5% или менее, например, отклонение 4% или менее, например, отклонение 3% или менее, например, отклонение 2% или менее, например, отклонение 1% или менее.

В варианте осуществления настоящего изобретения может быть представлена биологически чистая культура одного или нескольких штаммов бактерий согласно настоящему изобретению.

Термин «эффективное количество» может зависеть от контекста, в котором его применяют. В контексте введения композиции для снижения риска инфекции *C. acnes* и/или введения композиции для уменьшения тяжести инфекции *C. acnes* и/или уменьшения количества *C. acnes* у субъекта, эффективное количество описанной в настоящем документе композиции представляет собой количество, достаточное для лечения и/или ослабления

инфекции *C. asnes*, а также для уменьшения тяжести и/или снижения вероятности инфекции *C. asnes*. Снижением количества патогенных *C. asnes* у субъекта может быть снижение на 10 процентов, снижение на 20 процентов, снижение на 30 процентов, снижение на 40 процентов, снижение на 50 процентов, снижение на 60 процентов, снижение на 70 процентов, снижение на 80 процентов, снижение на 90 процентов, снижение на 95 процентов, снижение на 98 процентов, снижение на 99 процентов или снижение на 99,9 процентов тяжести инфекции *C. asnes* или вероятности заражения.

Эффективное количество можно вводить в виде композиции за одно или несколько введений.

Эффективное количество композиции можно вводить в виде местного введения, перорального введения или их комбинации. Предпочтительно в виде местного введения.

В варианте осуществления настоящего изобретения композиция содержит по меньшей мере один штамм бактерий согласно настоящему изобретению и пребиотик.

«Пребиотики» представляют собой это неперевариваемые пищевые компоненты, которые увеличивают рост определенных микроорганизмов. «Синбиотики» представляют собой композиции, содержащие по меньшей мере один пробиотик и по меньшей мере один пребиотик. Подразумевается, что такие композиции стимулируют рост полезных бактерий (например, пробиотика). Таким образом, мощные синбиотики основаны на комбинации определенных штаммов пробиотических бактерий с тщательно подобранными пребиотиками. Они могут принести пользу здоровью млекопитающих.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения представлена пробиотическая композиция, содержащая пробиотический микроорганизм и по меньшей мере еще один активный ингредиент.

Пребиотики относятся к химическим продуктам, которые вызывают рост и/или активность комменсальных микроорганизмов (например, бактерий и грибов), которые способствуют благополучию их хозяина. Пребиотики представляют собой неперевариваемые углеводы, которые проходят непереваренными через верхнюю часть желудочно-кишечного тракта и стимулируют рост и/или активность полезных бактерий, которые колонизируют микроорганизмы толстой кишки или кожи.

Некоторые олигосахариды, которые используют в качестве пребиотиков, представляют собой фруктоолигосахариды (FOS), ксилоолигосахариды (XOS), полидекстрозу, пектины, галактоолигосахариды (GOS) или олигосахариды грудного молока (НМО). Более того, в качестве пребиотиков также можно использовать дисахариды, такие как лактулоза, или некоторые моносахариды, такие как лактоза или тагатоза.

В варианте осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одно пробиотическое соединение может быть включено в композицию согласно изобретению. В очень широком смысле пребиотики представляют собой все те соединения, которые могут метаболизироваться пробиотиками.

Предпочтительно пребиотики не перевариваются или плохо перевариваются млекопитающих. Считается, что пребиотики, многие из которых являются

неперевариваемыми углеводами, способствуют росту пробиотиков. Пребиотики в естественных условиях содержатся, например, в капусте, луке, цельном зерне, бананах, чесноке, меде, луке-порее, артишоках, обогащенных продуктах и напитках, а также в пищевых добавках. Пребиотики хорошо известны в данной области, и при использовании в настоящем изобретении нет конкретных ограничений на пребиотик как таковой.

Однако в одном варианте осуществления по меньшей мере один пребиотический продукт в композиции выбран из следующих соединений и композиций: неперевариваемые углеводы, бета-глюканы, маннан-олигосахариды, инулин, олигофруктоза, олигосахариды грудного молока (НМО), галактоолигосахариды (GOS), лактулоза, лактосахароза, галактотриоза, фруктоолигосахарид (FOS), целлобиоза, целлодекстрины, циклодекстрины, мальтитол, лактитол, гликозилсукроза, бетаин, витамин Е или их вариант (причем варианты выбраны из альфа, бета, гамма, дельта токоферолов токотриенолов и токомоненолов). Необязательно, предпочтительными могут быть маннанолигосахариды и/или инулин. НМО могут включать лакто-N-тетраозу, лакто-N-фукопентаозу, лакто-N-триозу, 3'-сиалиллактозу, лакто-N-неофукопентаозу, сиаловую кислоту, L-фукозу, 2-фукозиллактозу, 6'-сиалиллактозу, лакто-N-неотетраозу и 3-фукозиллактозу.

Пребиотики также можно использовать в композициях для местного применения согласно настоящему изобретению.

В одном варианте осуществления в композиции для местного применения согласно настоящему изобретению используют по меньшей мере одно из следующих пребиотических соединений; лактоза, бета-глюканы, маннанолигосахариды, инулин, олигофруктоза, галактоолигосахариды (GOS), лактулоза, лактосахароза, галактотриоза, фруктоолигосахарид (FOS), целлобиоза, целлодекстрины, мальтитол, лактитол, гликозилсахароза, бетаин, витамин Е или его вариант (причем варианты выбраны из альфа, бета, гамма, дельта токоферолов, токотриенолов и токомоненолов), лакто-N-тетраоза, лакто-N-фукопентаоза, лакто-N-триоза, 3'-сиалиллактоза, лакто-N-неофукопентаоза, сиаловая кислота, 2-фукозиллактоза, 6'-сиалиллактоза, лакто-N-неотетраоза и 3-фукозиллактоза. Необязательно предпочтительной может быть лактоза и/или маннанолигосахариды и/или инулин.

D- и L-фукоза усиливают естественную защиту кожи, стимулируют иммунную защиту эпидермиса и/или предотвращают, и/или лечат кожные аутоиммунные заболевания. В одном варианте осуществления изобретения композиция содержит D- или L-фукозу.

В одном варианте изобретения композиция дополнительно содержит L-фукозу в концентрации в композиции от 10 мМ до 500 мМ.

Согласно другим признакам описанных предпочтительных вариантов осуществления композиция дополнительно содержит по меньшей мере один активный ингредиент.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения композиция содержит по меньшей мере один штамм бактерий согласно настоящему изобретению в сочетании с по меньшей мере одним дополнительным пробиотическим микроорганизмом, выбранным из

группы, состоящей из других бактерий, дрожжей или плесени.

Композиция согласно настоящему изобретению может содержать по меньшей мере один штамм бактерий согласно настоящему изобретению в сочетании с по меньшей мере одним дополнительным пробиотическим микроорганизмом, причем по меньшей мере один дополнительный пробиотический микроорганизм может быть выбран, но без ограничения, из: *Bifidobacterium lactis* DSM10140, *B. lactis* LKM512, *B. lactis* DSM 20451, *Bifidobacterium bifidum* BB-225, *Bifidobacterium adolescentis* BB-102, *Bifidobacterium breve* BB-308, *Bifidobacterium longum* BB-536 от Zaidanhojin Nihon Bifizusukin Senta (центр бифидобактерий Японии), *Bifidobacterium* NCIMB 41675, описанного в EP2823822, *Bifidobacterium bifidum* BB-225, *Bifidobacterium adolescentis* BB-102, *Bifidobacterium breve* BB-308, *Bifidobacterium lactis* HN019 (Howaru), поставляемого DuPont Nutrition Biosciences ApS, *Bifidobacterium lactis* DN 173 010, поставляемого группой Данон, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, поставляемого Chr. Hansen A/S, *Bifidobacterium lactis* 420, поставляемого DuPont Nutrition Biosciences ApS, *Bifidobacterium breve* Bb-03, *B. lactis* BI-04, *B. lactis* Bi-07, поставляемого DuPont Nutrition Biosciences ApS, *Bifidobacterium bifidum* Bb-02, *Bifidobacterium bifidum* Bb-06, *Bifidobacterium longum* KC-1 и *Bifidobacterium longum* 913 (DuPont Nutrition Biosciences ApS), *Bifidobacterium breve* M-16V (Morinaga) и/или *Lactobacillus*, обладающего пробиотическим действием, который может быть любым из следующих штаммов; *Lactobacillus rhamnosus* LGG (Chr. Hansen), *Lactobacillus acidophilus* NCFM (DuPont Nutrition Biosciences ApS), *Lactobacillus bulgaricus* 1260 (DuPont Nutrition Biosciences ApS), *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 (DuPont Nutrition Biosciences ApS), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (Howaru), поставляемых DuPont Nutrition Biosciences ApS, *Streptococcus thermophilus* 715 и *Streptococcus thermophilus* ST21, поставляемых DuPont Nutrition Biosciences ApS, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* CRL431 (ATCC 55544), *Lactobacillus paracasei* strain F-19 от Medipharm, Inc. *L. paracasei* LAFTI L26 (DSM Food Specialties, the Netherlands) и *L. paracasei* CRL 431 (Chr. Hansen), *Lactobacillus acidophilus* PTA-4797, *L. salivarius* Ls-33 и *L. curvatus* 853 (DuPont Nutrition Biosciences ApS), *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* LC705, описанного в FI патенте 92498, Valio Oy, *Lactobacillus* DSM15527 (Bifodan), *Lactobacillus* DSM15526 (Bifodan), *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) (ATCC 53103), описанного в патенте США 5032399, и *Lactobacillus rhamnosus* LC705 (DSM 7061), пропионовокислых бактерий, например, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* PJS (DSM 7067), описанных более подробно в FI патенте 92498, Valio Oy, *Nitrosomonas eutropha* D23 (ABIome), *Staphylococcus hominis* strains A9, C2, AMT2, AMT3, AMT4-C2, AMT4-G1 и/или AMT4-D12 (все от Matrisys Bioscience), *Staphylococcus epidermidis* strains M034, M038, All, AMT1, AMT5-C5 и/или AMT5-G6 (все от Matrisys Bioscience), *L. plantarum* YUN-V2.0 (BCCM LMG P-29456), *L. pentosus* YUN-V1.0 (BCCN LMG P-29455), *L. rhamnosus* YUN-S1.0 (BCCM LMG P-2961), *Weissella viridescens* LB10G (DSM 32906), *Lactobacillus paracasei* LB113R (DSM 32907), *Lactobacillus plantarum* LB244R (DSM 32996), *Lactobacillus paracasei* LB116R (DSM 32908), *Enterococcus faecium* LB276R (DSM 32997), *Lactobacillus plantarum* LB316R (DSM 33091), *Lactobacillus plantarum* LB356R

(DSM 33094), *Lactobacillus plantarum* LB312R (DSM 33098) и/или любых их комбинаций.

В варианте осуществления настоящего изобретения композиция содержит по меньшей мере один штамм бактерий согласно определению в данном документе в сочетании с по меньшей мере одним штаммом, выбранным из группы молочнокислых бактерий, способных улучшать плотное межклеточное соединение.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция содержит по меньшей мере один штамм бактерий согласно определению в данном документе в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным штаммом, выбранным из группы *Lactobacillus rhamnosus* LGG (Chr. Hansen), *Lactobacillus acidophilus* NCFM (DuPont), *Lactobacillus salivarius* Ls-33 (DuPont), *Propionibacterium jensenii* P63 (DuPont), *Bifidobacterium lactis* 420 (DuPont) и *L. acidophilus* La-14 (DuPont)); и/или клеточный лизат, и/или растворимый метаболит пробиотического штамма.

В рамках настоящего изобретения и как хорошо понятно в данной области термин «лечение» представляет собой подход для получения полезных или желаемых результатов, включая клинические результаты. Для целей данного предмета полезные или желаемые клинические результаты включают, но без ограничения, облегчение или улучшение одного или нескольких симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (то есть не ухудшение) состояния заболевания, предотвращение заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания и/или улучшение или смягчение болезненного состояния. Снижение может составлять 10 процентов, 20 процентов, 30 процентов, 40 процентов, 50 процентов, 60 процентов, 70 процентов, 80 процентов, 90 процентов, 95 процентов, 98 процентов или 99 процентов тяжести осложнений или симптомов.

В варианте осуществления настоящего изобретения может быть представлен способ лечения кожи млекопитающих. Способ включает введение субъекту (например, млекопитающему), нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного штамма бактерий, таким образом обрабатывая кожу для уменьшения колонизации и/или уровня носителя и/или инфекции.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения колонизация кожи может быть вызвана устойчивым к антибиотикам микроорганизмом. Колонизация кожи может быть вызвана резистентными *C. acnes*.

Настоящее изобретение может дать несколько преимуществ. В частности, поскольку существует отрицательный эффект использования продуктов против акне из-за возможности продуцировать устойчивые виды микробов, нужно иметь противомикробное лечение, в котором не используют обычные противомикробные средства. Следовательно, настоящее изобретение не способствует созданию будущих поколений патогенов, устойчивых к антибиотикам.

Настоящее изобретение может обеспечить несколько преимуществ. В частности, поскольку существует отрицательный эффект при использовании продуктов против акне, поскольку они приводят к значительной сухости кожи, нужно иметь противомикробное лечение, которое не вызывает сухости кожи. Следовательно, настоящее изобретение не

приводит к сухости кожи.

Настоящее изобретение может обеспечить несколько преимуществ. В частности, поскольку существует отрицательный эффект использования средств против акне из-за возможности вызвать раздражение и/или воспаление кожи, нужно иметь противомикробное лечение, которое не вызывает раздражения или дальнейшего воспаления кожи.

Настоящее изобретение может обеспечить несколько преимуществ. В частности, поскольку существует отрицательный эффект использования средств против акне из-за получаемого обесцвечивания (пигментации) кожи и чувствительности к воздействию солнца, нужно иметь противомикробное лечение, которое не вызывает никакого изменения цвета или чувствительности кожи к воздействию солнца. Следовательно, настоящее изобретение не приводит к какому-либо окрашиванию или чувствительности к воздействию солнца. Еще одним преимуществом настоящего изобретения является то, что настоящее изобретение уменьшает появление пигментации и обесцвечивания в качестве дополнительного преимущества к противомикробному действию против *S. acnes*.

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, представляющей собой композицию согласно настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного средства.

Кроме того, предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, представляющей собой композицию согласно настоящему изобретению для применения с целью лечения; облегчения, подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов.

Кроме того, предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, представляющей собой композицию согласно настоящему изобретению, содержащую один или несколько видов бактерий, способных к коагрегации с одним или несколькими штаммами *S. acnes*, для применения с целью лечения; облегчения, подавления; профилактики; и/или предотвращения *Acne vulgaris*.

Еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к способу лечения; облегчения, подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов, в частности, одного или нескольких патогенных штаммов *S. acnes*, например, *Acne vulgaris* у млекопитающих, таких как человек, причем способ включает введение нуждающемуся в этом млекопитающему терапевтически эффективного количества композиции согласно определению настоящего документа, содержащей один или несколько видов бактерий, например, одну или несколько молочнокислых бактерий согласно определению настоящего документа, таких как один или несколько штаммов бактерий, выбранных из группы, состоящей из:

- LB356R (*Lactobacillus plantarum* LB356R, депонированного как DSM 33094)
- LB244R (*Lactobacillus plantarum* LB244R, депонированного как DSM 32996)
- LB349R (*Leuconostoc mesenteriodes* LB349R, депонированного как DSM 33093)
- LB10G (*Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906).

Таким образом, один аспект изобретения относится к новым выделенным штаммам бактерий и/или композиции, содержащей один или несколько штаммов бактерий с противомикробной активностью против патогенных *C. acnes*.

Другой аспект изобретения относится к новым выделенным штаммам бактерий с активностью ингибирования роста против патогенных *C. acnes*.

Другой аспект изобретения относится к новым выделенным штаммам бактерий, которые способны коагрегировать с патогенными *C. acnes*.

Другой аспект настоящего изобретения относится к композициям, содержащим штаммы бактерий с противомикробной активностью и/или активностью ингибирования роста, и/или коагрегационной активностью против патогенных *C. acnes*.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является обеспечение применения композиции, содержащей штаммы бактерий с противомикробной активностью, и/или активностью ингибирования роста, и/или коагрегационной активностью против патогенных *C. acnes*.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является создание композиции для лечения инфекции, вызванной *C. acnes*.

Депонирование биологического материала

Следующий биологический материал, микроорганизмы, был депонирован в Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур как

Lactobacillus plantarum LB356R, депонировано как DSM 33094

Lactobacillus plantarum LB244R, депонировано как DSM 32996

Leuconostoc mesenteriodes LB349R, депонировано как DSM 33093

Weissella viridescens LB10G, депонируется как DSM 32906.

Следует отметить, что варианты осуществления и признаки, описанные в контексте одного из аспектов настоящего изобретения, также применимы к другим аспектам изобретения.

Все патентные и непатентные ссылки, цитируемые в настоящей заявке, полностью включены в данный документ посредством ссылки.

Далее изобретение будет описано более подробно в следующих неограничивающих примерах.

Примеры

Пример 1 Идентификация скрининга штаммов

Образцы

Для идентификации и отбора бактериального штамма (штаммов) согласно настоящему изобретению была создана коллекция штаммов молочнокислых бактерий (LAB). Образцы из различных источников, таких как домашняя квашенная капуста, кимчи и образцы здоровых доноров-людей (вагинальный, ротовой, анальный, кожа) были собраны для выделения по меньшей мере 995 молочнокислых бактерий. Образцы собирали на бульоне и агаре Man Rogosa Sharp (MRS, Sigma-Aldrich), культивированных анаэробно при 37°C в течение ночи или до образования колоний. Изоляты высевали и субкультивировали

до получения чистых колоний. Чистые колонии хранили в бульоне MRS с 25% глицерина при температуре -80°C для использования в будущем. Штаммы идентифицировали с использованием стандартных методов секвенирования по Сенгеру 16S рРНК.

Пример 2 - Коагрегация

Штаммы *C. acnes* получали из BEI Resources и использовали в качестве исследуемых тест-организмов для скрининга.

Штамм	Номер ATCC	Филотип (ресА)	Риботип
Cutibacterium acnes HL110PA3	HM-554	II	Риботип RT6 - непатогенный
Cutibacterium acnes HL110PA4	HM-555	II	Риботип RT6 - непатогенный
Cutibacterium acnes HL110PA1	HM-552	IB	Риботип RT8 - акне
Cutibacterium acnes HL053PA2	HM-523	IB	Риботип RT8 - акне
Cutibacterium acnes HL043PA1	HM-513	IA	Риботип RT5 - акне
Cutibacterium acnes HL038PA1	HM-512	IA	Риботип RT4 - акне

C. acnes ATCC 6919 (Американская коллекция типовых культур) использовали типичный штамм для *C. acnes*.

Lactobacillus rhamnosus LGG (Chr. Hansen) использовали в качестве контрольного пробиотического штамма во всех экспериментах, а продукт YUN ACN+крем (YUN Probiotherapy, интернет-магазин: www.shop.yun.be), содержащий живые молочнокислые бактерии, использовали в качестве контрольных коммерческих доступных пробиотических молочнокислых бактерий для местного применения. Штаммы *L. rhamnosus* LBB и YUN выращивали в виде LAB на MRS, как описано в примерах.

Коагрегацию определяли в соответствии с известными методами Cisar, J. O. et al. (1979). «Specificity of Coaggregation Reactions between Human Oral Streptococci and Strains of *Actinomyces Viscosus* or *Actinomyces Naeslundii*». *Infection and Immunity* 24 (3): 742-52.

Инокулят всех молочнокислых бактерий (LAB) выращивали в бульоне MRS анаэробно в течение ночи, а штаммы *C. acnes* выращивали в бульоне BHI анаэробно при 37°C до плотности клеток приблизительно 10⁸ КОЕ/мл (2-3 дня). Ночные образцы клеток собирали с помощью центрифугирования (6000 об/мин в течение 2 мин), и супернатанты удаляли с осадка. Осадок промывали два раза в буфере 1xPBS.

Клеточный осадок ресуспендировали в 1XPBS и 500 мкл *C. Acnes*, и брали аликвоты штаммов LAB в 24-луночные планшеты. Планшеты инкубировали на шейкере (200 об/мин).

Образование автоагрегации и коагрегации наблюдали визуально через 1 час, 2 часа, 3 часа и 24 часа.

В качестве контроля для самоагрегации (автоагрегации) каждый штамм смешивали с PBS в конечном объеме 1500 мкл в каждой лунке.

Коагрегацию определяли путем смешивания штаммов *C. acnes* и LAB. Каждый штамм суспендировали в буфере PBS и смешивали 1:1 до конечного объема 1500 мкл в каждой лунке.

Планшеты инкубировали на шейкере приблизительно при 200 об/мин в течение 24 часов. Образование коагрегации наблюдали через 1 час, 2 часа, 3 часа и 24 часа.

Образование коагрегации оценивали визуально от 1 до 5 по следующей шкале:

- 1: без агрегирования
- 2: Визуальная начальная агрегация
- 3: Образование агрегатов <0,5 мм
- 4: Образование агрегатов > 0,5 мм и <1 мм
- 5: Образование агрегатов > 1 мм

Таблица 1: Коагрегация, измеренная с использованием визуальной оценки от 1 до 5 (см. шкалу выше). Данные показаны для инкубации 1 час и 24 часа.

	HM-552		HM-523		HM-513		HM-512	
LAB	1 ч	24 ч	1 ч	24 ч	1 час	24 ч	1 ч	24ч
LB10G	2	3	2	3	2	3	3	4
LB244R	4	4	3	3	3	4	4	4
LB349R	3	3	3	3	2	3	3	4
LB356R	4	5	4	5	5	5	5	5
LGG	1	1	1	1	1	1	1	1
продукт YUN	1	1	1	1	1	1	1	1
	HM-554			HM-555			ATCC6919	
LAB	1 ч		24 ч		1 ч		24 ч	
LB10G	1		3		2		2	
LB244R	2		2		2		2	
LB349R	2		3		3		1	
LB356R	2		3		3		3	
LGG	1		1		1		1	
продукт YUN	1		1		1		1	

Идентифицировали 34 штамма LAB, способных коагрегировать с патогенными штаммами *C. acnes*, в таблице 1 приведена коагрегация 4 штаммов (LB10G, LB244R, LB349R и LB356R), эти штаммы относительно больше коагрегируют с патогенными риботипами *C. acnes* (RT4, RT5 и RT8) по сравнению с непатогенным риботипом (RT6).

Штаммы типа ATCC в целом ведут себя немного иначе в тесте: штамм также легче выращивать, и его можно выращивать анаэробно в течение ночи в ВНИ до OD (600) > 1.

Контрольные LGG и штаммы в коммерческом продукте от YUN не проявляют способности коагрегировать с *C. acnes*.

Коагрегация может подавлять рост организма и влиять на способность создавать биопленку. Таким образом, способность LAB коагрегировать с *C. acnes* может ингибировать образование биопленок и снижать вирулентность штамма акне.

Пример 3 - Влияние pH на коагрегацию.

Коагрегацию определяли известными методами Cisar, J. O. et al. (1979), как описано выше.

Инокулят всех молочнокислых бактерий (LAB) выращивали в бульоне MRS анаэробно в течение ночи, а штаммы *C. acnes* выращивали в бульоне ВНИ анаэробно при 37°C до плотности клеток приблизительно 10^8 КОЕ/мл (2-3 дня). Ночные образцы клеток собирали с помощью центрифугирования (6000 об/мин в течение 2 мин), и супернатанты удаляли с осадка. Осадок дважды промывали буфером с установленным pH, используемым для теста коагрегации, соответственно.

Буферы MOPS (3-(N-морфолино) пропансульфоновая кислота), полученные от Merck (продукт 69947), и MES (2-(N-морфолино) этансульфоновая кислота), полученные от Sigma (продукт M2933), использовали в концентрации 100 мМ. MES использовали для pH 4,5, pH 5, pH 5,5, pH 6 и pH 6,5. MOPS использовали для pH 6,5, pH 7, pH 7,5 и pH 8.

Было обнаружено, что коагрегация в инертных буферах MES и MOPS несколько меньше по сравнению с буфером PBS. MES и MOPS позволяют оценить влияние pH на коагрегацию в широком спектре значений pH, ограничивая любое влияние буфера.

Осадок клеток каждого штамма ресуспендировали в каждом буфере, и брали аликвоту 500 мкл штаммов *C. acnes* и LAB в 24-луночные планшеты для каждого pH. Планшеты инкубировали на шейкере (200 об/мин). Образование автоагрегации и коагрегации наблюдали визуально через 1 час, 2 часа, 3 часа и 24 часа.

В качестве контроля самоагрегации (автоагрегации) каждый штамм при каждом значении pH включали в конечный объем 1000 мкл в лунке. Было обнаружено, что самоагрегация существенно не отличается при разных значениях pH. Ни для одного из протестированных штаммов не наблюдалось значительной самоагрегации.

Коагрегацию определяли путем смешивания штаммов *C. acnes* и LAB. Каждый штамм суспендировали в буфере PBS и смешивали 1:1 до конечного объема 1000 мкл в каждой лунке.

Планшеты инкубировали на шейкере приблизительно при 200 об/мин в течение 24 часов. Образование коагрегации наблюдали через 1 час, 2 часа, 3 часа и 24 часа.

Образование коагрегации оценивали визуально от 1 до 5 по следующей шкале:

- 1: без агрегирования
- 2: Визуальная начальная агрегация
- 3: Образование агрегатов <0,5 мм

4: Образование агрегатов > 0,5 мм и < 1 мм

5: Образование агрегатов > 1 мм

Таблица 2: Коагрегацию измеряли с использованием визуальной оценки от 1 до 5 (см. шкалу выше). Показаны данные для инкубации 1 час и для 2 штаммов LB244R и LB356R, а также для патогенного *C. acnes* HM-513 и непатогенного *C. acnes* HM-554.

Буфер	LB244R+HM513	LB244R+HM554	LB356R+HM513	LB356R+HM554
PBS	3	2	5	2
MES 4.5	5	4	5	3
MES 5.0	5	3	5	3
MES 5.5	5	3	5	3
MES 6.0	4	3	5	3
MES 6.5	4	2	5	2
MOPS 6.5	4	2	5	2
MOPS 7.0	3	2	4	2
MOPS 7,5	2	1	4	1
MOPS 8.0	2	1	3	1

Для штаммов, способных коагрегировать, результат был в общем таким же. Снижение pH в результатах увеличило коагрегацию. Все эти 4 штамма; LB244R, LB356R, LB10G и LB349R привели к увеличению коагрегации при уменьшении pH. Соотношение между коагрегацией с патогенным по сравнению с непатогенными *C. acnes* было постоянным, и, похоже, незначительно зависело от изменения pH. Таким образом, при низких значениях pH штаммы по-прежнему больше коагрегируют с патогенными *C. acnes* по сравнению с непатогенными *C. acnes*.

Контрольные LGG и штаммы в коммерческом продукте от YUN не проявляют способности коагрегации с *C. acnes* ни в одном из буферов.

Коагрегация может подавлять рост организма и влиять на способность создавать биопленку. Таким образом, LAB, способный коагрегировать с *C. acnes*, может ингибировать образование биопленок и снижать вирулентность штамма акне. Поэтому ожидается, что этот эффект будет еще больше улучшаться при значениях pH ниже 7.

Пример 4 - Анализ пятна на газоне

Тест «Пятно на газоне» на ингибирование роста и антимикробные метаболиты был проведен с использованием методов, описанных в Zhang P. et al. (2015) Interstrain interactions between bacteria isolated from vacuum-packaged refrigerated beef. Appl Environ Microbiol 81:2753-2761. doi:10.1128/AEM.03933-14 и Arena, M. P. et al. (2016) Use of Lactobacillus plantarum Strains as a Bio-Control Strategy against Food-Borne Pathogenic Microorganisms. Frontiers in Microbiology 7 (APR): 1-10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00464>.

Изоляты бактериального штамма из примера 1 культивировали из образцов для хранения в 2 мл бульона MRS в 24-луночных планшетах. Каждый тестовый штамм *C. acnes*

культивировали анаэробно приблизительно в 200 мл бульона ВНИ, в колбе Эрленмейера в течение 48-72 часов ($OD_{600} > 1$). Изоляты LAB выращивали в течение ночи при 37°C. Плотность клеток в ночной культуре *S. Acnes* регулировали в бульоне ВНИ до оптической плотности 1 при 600 нм (OD_{600}) и далее разводили в буфере PBS до разбавления 10^{-2} . Двести микролитров клеточной суспензии высевали на планшеты ВНИ с агаром. Газон планшетов с *S. Acnes* оставляли для сушки в течение прибл. 10-20 минут в стерильном воздухе. Три повторности по 20 мкл выделенного LAB наносили на газон *S. acnes*. Планшеты оставляли для сушки и далее инкубировали при 37°C анаэробно в течение 48 часов. Зону ингибирования измеряли в миллиметрах в качестве чистой зоны вокруг пятна, и диаметр измеряли как полный диаметр пятна. Ингибирование роста наблюдали, так как LAB может перерастать штамм *S. acnes* в зоне пятна, указанной в таблице 2 в виде (+). Если штамм *S. acnes* может перерастать пятнистый бактериальный штамм, то ингибирование роста не обнаружено, что указано в таблице 2 как (-).

15 штаммов смогли превзойти все штаммы *S. acnes*, 5 штаммов LAB были идентифицированы как обладающие значительным ингибирующим действием на *S. acnes*, а также с зоной ингибирования более 1 мм вокруг пятна.

L. rhamnosus LGG (Chr. Hansen) и продукт Yun использовали в качестве контрольных коммерческих пробиотических штаммов. Ни *L. rhamnosus*, ни штаммы YUN не были способны ингибировать рост каких-либо патогенных тестируемых штаммов *S. acnes*, а также *L. rhamnosus* LGG или продукт YUN не давали какой-либо чистой зоны.

S. acnes ATCC 6919, по-видимому, легче ингибировать рост, и было выявлено, что многие штаммы обладают ингибирующей активностью против ATCC 6919, но, по-видимому, не обладают какой-либо ингибирующей активностью в отношении патогенных изолятов (RT4, RT5 и RT8) или даже против непатогенных изолятов (RT6).

Таблица 3

Анализ пятен с типовым штаммом (*S. acnes* ATCC 6919) в качестве мишени, зона ингибирования, измеренная для каждого штамма с эффектом.

* Диаметр был средним из трех измерений зоны ингибирования. ** Длина зон ингибирования составляла среднее значение по трем измерениям от периферии пятна бактерий до роста *S. acnes*.

Штаммы	Типовой штамм <i>S. acnes</i>	
	* Диаметр [мм]	** Зона ингибирования [мм]
LB10G	15	3,1
LB244R	16	2,8
LB349R	17	3,7
LB356R	12	1,5

Таблица 4. Анализ пятен с HM-523 в качестве штамма-мишени, зона ингибирования измерена на штамм с эффектом. * Диаметр составлял среднее значение из трех измерений зоны ингибирования. ** Длина зон ингибирования составляла среднее значение по трем

измерениям от периферии пятна бактерий до роста НМ-523.

НМ-523		
Штаммы	* Диаметр [мм]	** Зона ингибирования [мм]
LB10G	14	2
LB244R	14	2
LB349R	14	2
LB356R	13	1

Таблица 5: Подавление роста и антимикробные метаболиты. Зону ингибирования определяют, как среднее значение трех измерений.

	Ингибирование роста в пятне				Зона ингибирования: просвет вокруг пятна (мм)			
LAB	НМ-523	НМ-513	НМ-512	НМ-555	НМ-523	НМ-513	НМ-512	НМ-555
LB10G	+	+	+	+	2	3	2	2
LB244R	+	+	+	+	2	3	3	2
LB349R	+	+	+	+	3	3	3	3
LB356R	+	+	+	+	1,5	1,7	1,5	2
LGG	-	-	-	-	0	0	0	0

Пример 5 - Оценка бактериальных лизатов.

Бактериальные лизаты получали 3 разными способами.

Изолят LAB (LB356R) выращивали в MRS в течение ночи при 37°C.

Лизат 1. Пробирку с 15 мл ночной культуры помещали в ледяную ванну, и клетки лизировали ультразвуком в течение 30 мин с использованием ультразвукового устройства Q125 (QSonica).

Лизат 2: 15 мл ночной культуры доводили 0,1 М HCl до pH 3, инкубировали в течение 2 дней при 45 градусах Цельсия.

Лизат 3: к 15 мл ночной культуры добавляли 5% SDS (Sigma-Aldrich L3771) и хранили при -20 градусов Цельсия в течение 1 часа, инкубировали при 50 градусах Цельсия в течение 1 часа. Циклы изменения температуры от -20 до +50 градусов проводили по 2 x 8 часов.

Каждый лизат оценивали на наличие жизнеспособных клеток после процессов лизирования, соответственно.

Лизаты оценивали на сохранение активности против *S. acnes* НМ-512 путем тестирования способности к коагрегации, как описано в примере 3, а также на активность ингибирования роста путем совместной инкубации каждого лизата с ВНІ, инокулированным НМ-512, приблизительно до 10⁴ КОЕ/мл и отслеживания роста и ингибирования роста путем измерения OD (600 нм) с помощью спектрофотометра.

Было показано, что все три лизата ингибируют рост НМ-512. Лизат 1 и 2, как было обнаружено, коагрегировали сравнимо с жизнеспособными клетками LB356R, тогда как лизат 3, как было обнаружено, коагрегировал меньше, чем жизнеспособные клетки с оценкой коагрегации 3 с использованием шкалы в примере 2.

Пример 6:

Штамм LAB штамм LB356R получали на растительном масле, содержащем масло жожоба и миндальное масло (1:1). Штамм добавляли в концентрации приблизительно 10^8 КОЕ/мл масла.

10 подростков (возраст 15-19 лет) с кожей, склонной к акне, обрабатывали композицией один раз в день. Визуальную оценку тяжести акне определяли по фотографиям до обработки (фиг. 1a) и после обработки (фиг. 1b). Визуальное улучшение наблюдали у всех испытуемых, и в среднем улучшение обнаруживали через 3-4 дня лечения.

Пример 7:

Противовоспалительную активность клеток LAB определяли на трехмерной модели ткани реконструированного эпидермиса человека (RHE), производимой Episkin (Lyon, France) (партия 19-RHE-164). Клетки RHE обрабатывали каждым штаммом LAB. Ночные культуры каждого штамма в MRS разводили в физиологическом растворе до OD=0,8 и инкубировали с клетками RHE в течение 4 часов. Экспрессию генов определяли с помощью qRT-PCR TSLP, TNF- α , IL-8, TLR-2 и HBD2. Целостность РНК оценивали путем нанесения экстрагированной РНК на 1% агарозный гель: были обнаружены рибосомные полосы 18S и 28S. Набор для обратной транскрипции кДНК высокой емкости использовали для синтеза кДНК из РНК. Для ПЦР в реальном времени использовали Applied Biosystems 7500 Fast Real Time PCR с флуоресцентными анализами ПЦР Taqman. GAPDH использовали в качестве эндогенного контрольного гена для нормализации вводимых количеств. Значительная повышающая регуляция HBD2 наблюдалась для всех 4 штаммов LAB. Штаммы пробиотиков были эффективны в усилении врожденной иммунной защиты хозяина от инфекции.

Пример 8:

Образование биопленки определяли как способность микроорганизма инициировать связывание с поверхностью и рост на ней.

Инокулят всех молочнокислых бактерий (LAB) выращивали в бульоне MRS анаэробно в течение ночи, а штаммы *S. acnes* выращивали в бульоне BHI анаэробно при 37°C до плотности клеток приблизительно 10^8 КОЕ/мл (2-3 дня). Ночные образцы клеток собирали с помощью центрифугирования (6000 об/мин в течение 2 мин), и супернатанты удаляли с осадка. Осадок дважды промывали буфером 1XPBS.

Осадок клеток ресуспендировали в бульоне BHI и разбавляли до концентрации клеток приблизительно 10^6 КОЕ/мл. 100 мкл *S. acnes* и 100 мкл штамма LAB помещали в 96-луночные планшеты (планшет для культивирования Sigma Cell SIAL0596-50EA, плоское дно). Планшеты инкубировали 1 час при 37°C, чтобы позволить клеткам прикрепиться к

нижней поверхности лунки. Из планшетов для микротитрования выливали бульон, и дно лунки один раз промывали PBS.

В каждую лунку добавляли 200 мкл стерильного бульона ВНІ, и уровень прикрепленных клеток к поверхности определяли путем измерения оптической плотности с использованием стандартной кривой для каждого штамма с корреляцией между измерением OD (обнаружение при 600 нм) и количеством клеток, определенным путем подсчета на планшете, как КОЕ/мл, и рассчитывали как количество прикрепленных жизнеспособных КОЕ/лунку.

Первоначальное раннее образование биопленки сопровождалось микроскопией и анализом изображений с использованием oCelluScope от BioSense solutions, Denmark. За ростом биопленки наблюдали в течение 4 часов при 37°C (анаэробно). Было обнаружено, что рост биопленки напрямую коррелирует с количеством прикрепленных к поверхности клеток.

Был предусмотрен контроль с селективной средой (MRS) для LAB, чтобы уменьшить вклад LAB в биопленку, а также контроль образования биопленок в одной культуре каждого штамма акне. OCelluScope позволяет проводить визуальный анализ и анализ изображений для оценки доминирующего штамма в биопленке на основе морфологии клеток.

Таблица 6: Первоначальное прикрепление к поверхности (число клеток, прикрепленных к дну лунки, число показано как среднее значение тройного измерения):

	HM-523	HM-513	HM-512	HM-554	HM-555
Нет LAB	$6,4 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$8,3 \times 10^3$	2×10^2	4×10^1
LB10G	$3,1 \times 10^1$	$3,1 \times 10^1$	$3,1 \times 10^1$	$3,1 \times 10^1$	$3,1 \times 10^1$
LB244R	$1,4 \times 10^1$	$1,4 \times 10^1$	$1,4 \times 10^1$	$1,4 \times 10^1$	$1,4 \times 10^1$
LB349R	$0,6 \times 10^1$	$0,6 \times 10^1$	$0,6 \times 10^1$	$0,6 \times 10^1$	$0,6 \times 10^1$
LB356R	$0,1 \times 10^1$	$0,1 \times 10^1$	$0,1 \times 10^1$	$0,1 \times 10^1$	$0,1 \times 10^1$
LGG	$2,8 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3$	$4,1 \times 10^3$	$3,9 \times 10^1$	$7,4 \times 10^1$
Продукт YUN	$4,7 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$4,8 \times 10^1$

Было замечено, что непатогенные штаммы (HM-554 и HM-555) в целом меньше прикрепляются к поверхностям, чем патогенные штаммы (HM-523, HM-513 и HM-512). Уровень начального прикрепления непатогенных штаммов при отсутствии пробиотического штамма составлял приблизительно от 10 до 500 клеток на лунку. Тогда как первоначальное прикрепление для патогенных штаммов составляло приблизительно от 1000 до 10000 клеток на лунку, когда пробиотические штаммы не присутствовали. Присутствие LB10G, LB244R, LB349R и LB356R значительно ингибировало первоначальное прикрепление патогенных штаммов. Таким образом, для этих 4 пробиотических штаммов наблюдалось снижение начального прикрепления на 2 логарифмических единицы, и это снижение было единственным измеренным

значительным изменением. Ни один из двух контрольных штаммов LAB (LGG и YUN) не оказывал какого-либо влияния на предотвращение начального прикрепления к поверхностям.

Ссылки

Fitz-Gibbon et al. 2013, J. Invest. Dermatol. 133:2152-60. doi:10,1038/jid,2013,21

McДолунка et al. 2013, PLoS один 8(9): e70897

Dreno et al. 2018, JEADV 32(suppl. 2), 5-14. doi:10,1111/jdv,15043

WO 2017/220525

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая один или несколько штаммов бактерий, причем один или несколько штаммов бактерий проявляют более сильное ингибирование патогенных штаммов *C. acnes* по сравнению с непатогенными штаммами *C. acnes*.

2. Композиция по п. 1, в которой ингибирование представляет собой ингибирование роста, ингибирование коагрегации, ингибирование биопленки штаммов *C. acnes* или их комбинацию.

3. Композиция по любому из пп. 1 или 2, причем композиция, содержащая один или несколько штаммов бактерий, способных к более сильной коагрегации с одним или несколькими патогенными штаммами *C. acnes* по сравнению со способностью одного или нескольких штаммов бактерий к коагрегации с одним или несколькими непатогенными штаммами *C. acnes*.

4. Композиция по любому из пп. 1-3, в которой ингибирование патогенных штаммов *C. acnes* сильнее на 10% или более по сравнению с ингибированием непатогенных штаммов *C. acnes*, например, сильнее на 15% или более, например, сильнее на 20% или более, например, сильнее на 30% или более, например, сильнее на 40% или более, например, сильнее на 50% или более, например, сильнее на 75% или более, например, сильнее на 100% или более, например, сильнее на 150% или более, например, сильнее на 200% или более, например, сильнее на 300% или более.

5. Композиция по любому из предыдущих пунктов, в которой один или несколько патогенных штаммов *C. acnes* выбирают из риботипа RT4; риботипа RT5; и/или риботипа RT8 *Cutibacterium acnes*.

6. Композиция по любому из предыдущих пунктов, в которой один или несколько штаммов бактерий представляют собой один или несколько штаммов молочнокислых бактерий, предпочтительно, один или несколько штаммов молочнокислых бактерий представляет собой штамм *Lactobacillus*; штамм *Leuconostoc*; и/или штамм *Weissella*, предпочтительно, штамм бактерий представляет собой штамм *Lactobacillus*.

7. Композиция по п. 6, в которой штамм *Lactobacillus* выбирают из *Lactobacillus planetarium*, предпочтительно, *Lactobacillus planetarium* выбирают из *Lactobacillus planetarium* LB356R, депонированного как DSM 33094, или из *Lactobacillus planetarium* LB244R, депонированного как DSM 32996; или их комбинации, штамм *Leuconostoc* выбирают из *Leuconostoc mesenteriodes*, предпочтительно, *Leuconostoc mesenteriodes* выбирают из *Leuconostoc mesenteriodes* LB349A, депонированного как DSM 33093; и/или штамм *Weissella* выбирают из *Weissella viridescens*, предпочтительно, *Weissella viridescens* выбирают из *Weissella viridescens* LB10G, депонированного как DSM 32906.

8. Композиция по любому из предыдущих пунктов, в которой при коагрегации в течение 1 часа образуются агрегаты с размером частиц агрегата более 0,1 мм; например, более 0,25 мм; например, более 0,5 мм; например, более 0,75 мм; например, более 1,0 мм; например, в диапазоне от 0,1-0,5 мм; предпочтительно, в диапазоне от 0,5-1,0 мм; еще более предпочтительно более 1,0 мм.

9. Композиция по любому из предыдущих пунктов, причем композиция представляет собой композицию для местного применения (для местного лечения) или пероральную композицию (для перорального применения) или ректальную композицию (для ректального применения). Предпочтительно, композиция представляет собой композицию для местного применения для местного лечения *Acne vulgaris*.

10. Композиция согласно настоящему изобретению в которой один или несколько штаммов бактерий представлены в виде одного или нескольких жизнеспособных штаммов.

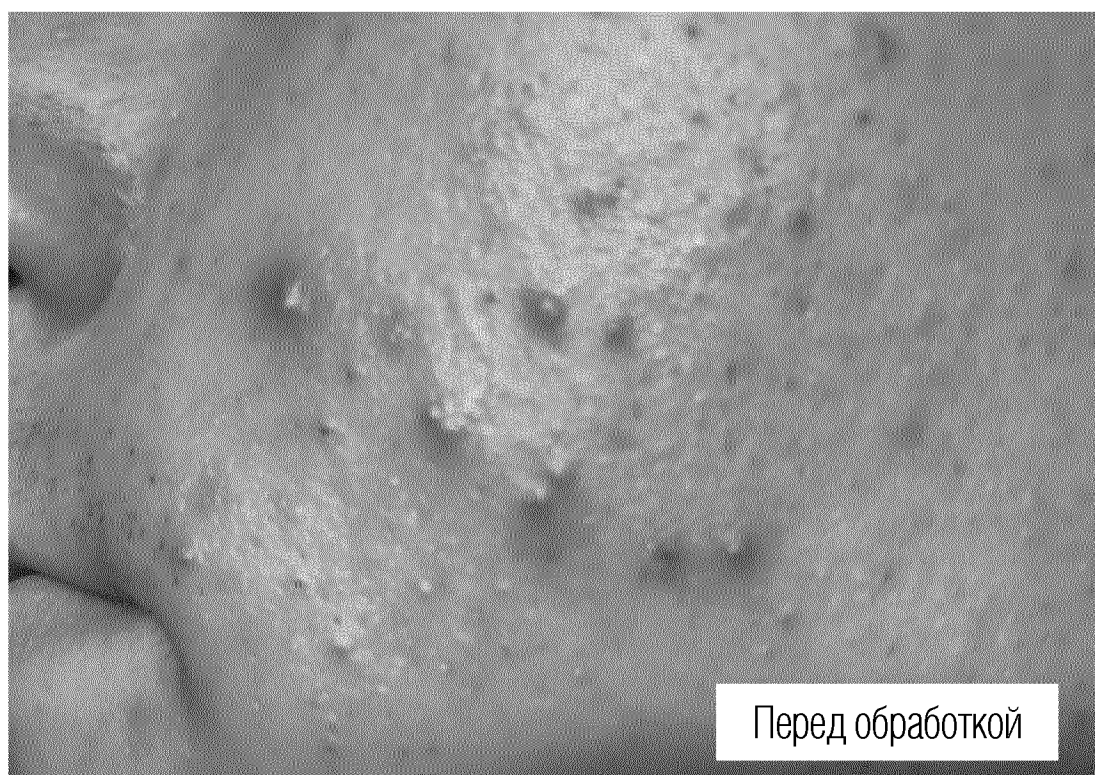
11. Композиция по п. 10, в которой концентрация одного или нескольких штаммов бактерий, предпочтительно одного или нескольких жизнеспособных штаммов находится в диапазоне от 10^3 до 10^{14} колониеобразующих единиц (КОЕ); например, в диапазоне от 10^5 - 10^{13} КОЕ; например, в диапазоне от 10^6 - 10^{12} КОЕ; например, в диапазоне от 10^7 - 10^{11} КОЕ; например, в диапазоне от 10^8 - 10^{10} КОЕ; например, примерно 10^9 КОЕ.

12. Композиция по любому из предыдущих пунктов, в которой pH композиции составляет pH 6,5 или ниже; например, pH 6 или ниже; например, pH 5,5 или ниже; например, pH 5 или ниже; например, pH 4,5 или ниже; например, в диапазоне pH 4-6,5; например, в диапазоне pH 4,5-6,0; например, в диапазоне pH 4,7-5,5.

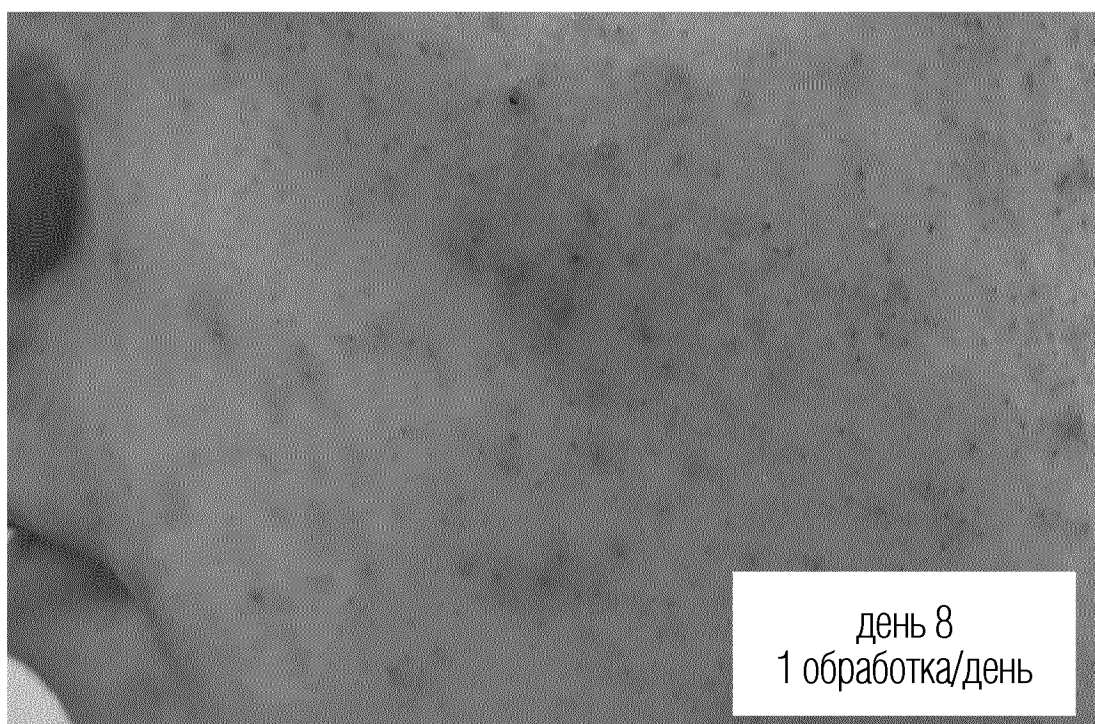
13. фармацевтическая композиция, представляющая собой композицию по любому из пп. 1-12 для применения в качестве лекарственного средства.

14. фармацевтическая композиция, представляющая собой композицию по любому из пп. 1-12 для применения с целью лечения; облегчения, подавления; профилактики; и/или предотвращения роста патогенных микроорганизмов.

15. фармацевтическая композиция, представляющая собой композицию по любому из пп. 1-12 для применения с целью лечения; облегчения, подавления; профилактики; и/или предотвращения *Acne vulgaris*.



ФИГ. 1а



ФИГ. 1б