

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



WIPO | PCT



(10) Numéro de publication internationale
WO 2022/129775 A1

(43) Date de la publication internationale
23 juin 2022 (23.06.2022)

(51) Classification internationale des brevets :

A61Q 19/00 (2006.01) A61K 8/99 (2017.01)
A61Q 19/08 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2021/052325

(22) Date de dépôt international :

14 décembre 2021 (14.12.2021)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

FR2013222 15 décembre 2020 (15.12.2020) FR

(71) Déposants : **BASF BEAUTY CARE SOLUTIONS FRANCE SAS** [FR/FR] ; 32 rue Saint Jean de Dieu, 69007 Lyon (FR). **BASF CORPORATION** [US/US] ; 100 Park Avenue, Florham Park, New Jersey 07932 (US).

(72) Inventeurs : **ABRAHAM, Neethu** ; 9 Morningside Rd, Ardsley, NY 10502 (US). **ANDRE, Valérie** ; c/o BASF Beauty Care Solutions France SAS, 32, rue Saint Jean de Dieu, 69007 Lyon (FR). **DEL BENE, Nicolas Stefano** ; c/o BASF Corporation, 100 Park Avenue, Florham Park, NJ 07932 (US). **GARLET, Allison** ; c/o BASF Corporation, 540 White Plains Road, Tarrytown, NY 10591-9005 (US). **GAULT, Manon** ; c/o BASF Beauty Care Solutions France SAS, 32, rue Saint Jean de Dieu, 69007 Lyon (FR). **LEO-TY-OKOMBI, Sabrina** ; c/o BASF Beauty Care Solutions France SAS, 32, rue Saint Jean de Dieu, 69007 Lyon (FR).

(74) Mandataire : **CABINET BECKER ET ASSOCIES** ; 25, rue Louis le Grand, 75002 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,

MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

- avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues (règle 48.2(h))
- avec une (des) indication(s) relative(s) à du matériel biologique déposé, fournie(s) selon la règle 13bis, séparément, et non avec la description (règles 13bis.4(d)(i) et 48.2(a)(viii))

(54) Title: COSMETIC, NUTRACEUTICAL OR DERMATOLOGICAL USE OF A LACTOBACILLUS CRISPATUS STRAIN AND/OR OF A COMPOSITION COMPRISING SAME

(54) Titre : UTILISATION COSMÉTIQUE, NUTRACEUTIQUE OU DERMATOLOGIQUE D'UNE SOUCHE DE LACTOBACILLUS CRISPATUS ET/OU D'UNE COMPOSITION LA COMPRENANT

(57) Abstract: The present invention relates to the cosmetic, nutraceutical and/or pharmaceutical, in particular dermatological, use of a *Lactobacillus crispatus* strain and/or of a composition comprising same, for maintaining and/or increasing the expression of the molecules of the extracellular matrix of the skin and/or mucous membranes and in particular for maintaining and/or increasing the biomechanical properties of healthy skin and/or healthy mucous membranes, preferentially the firmness and/or the elasticity and/or the density of healthy skin and/or healthy mucous membranes.

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation cosmétique, nutraceutique et/ou pharmaceutique, notamment dermatologique, d'une souche de *Lactobacillus crispatus* et/ou d'une composition la comprenant pour maintenir et/ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et/ou des muqueuses et notamment pour maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et/ou des muqueuses saines, préférentiellement la fermeté et/ou l'élasticité et/ou la densité de la peau saine et/ou des muqueuses saines.



WO 2022/129775 A1

Utilisation cosmétique, nutraceutique ou dermatologique d'une souche de
Lactobacillus crispatus et / ou d'une composition la comprenant

La présente invention concerne l'utilisation cosmétique, nutraceutique et / ou
5 pharmaceutique, notamment dermatologique, d'une souche de *Lactobacillus crispatus*
et / ou d'une composition la comprenant pour maintenir et / ou augmenter l'expression
des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses et
notamment pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau
saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement la fermeté et / ou l'élasticité et
10 / ou la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, encore
préférentiellement la fermeté et / ou l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses
saines.

La structure et les propriétés de la peau changent sous l'effet de processus
15 biologiques, physiques et biomécaniques complexes, entraînant une diminution
d'élasticité, de fermeté, de densité du derme, notamment sous l'effet de la modification
des molécules de la matrice extracellulaire.

La matrice extracellulaire de la peau et des muqueuses, dite MEC, est composée de
20 l'association de trois types de molécules :

- des fibres : collagène et élastine,
 - des glycoprotéines : moins abondantes que les fibres mais ont un rôle plus important
dans l'adhérence cellulaire, comme la fibronectine et la laminine,
 - des polysaccharides très hydratés constituant un gel de remplissage de la matrice.
- 25 Cette matrice joue un rôle prépondérant dans le maintien de la structure et les
propriétés de la peau, notamment l'élasticité, la fermeté ainsi que la densité du derme.

Ces molécules de la MEC étant notamment synthétisées par les fibroblastes et les
kératinocytes, le renouvellement de ces derniers est primordial pour le maintien des
30 propriétés biomécaniques de la peau.

L'élastine est une protéine composant les fibres élastiques en s'associant avec
d'autres molécules comme les fibrillines et les MAGP (Microfibrillar Associated
Glycoproteins).

L'élastine est synthétisée sous la forme de tropoélastine soluble qui acquiert ses propriétés physico-chimiques (insolubilité, élasticité) après sa réticulation intra- et intermoléculaire par une lysyl oxydase (LOX) et son dépôt sur les microfibrilles.

5 Dans la peau, les fibres élastiques fonctionnelles sont formées par les fibroblastes du derme, mais certains composants nécessaires à l'élaboration des fibres élastiques ont aussi été retrouvés dans les cellules de l'épiderme.

10 Le taux de renouvellement des fibres élastiques est très faible dans la vie adulte, bien que le taux global d'élastine de la peau puisse augmenter. Chez le nouveau-né, les microfibrilles ne sont pas toutes complètement couvertes d'élastine, et le deviennent vers la puberté. Dès 40 ans, on voit apparaître sur les fibres des inclusions, plus fréquentes chez les femmes, puis la fragmentation des fibres élastiques et leur disparition sous la jonction dermo-épidermique (JDE). Ce fractionnement et / ou cette
15 disparition sous la JDE se traduisent par la diminution d'élasticité de la peau et la formation de rides. La synthèse de fibres élastiques non fonctionnelles est observée lors du photo-vieillessement, mais cette augmentation s'accompagne de la diminution accélérée des fibres élastiques sous la JDE.

20 Le collagène est une protéine constitutive de la matrice extra-cellulaire (MEC) présente en grande quantité dans les tissus des vertébrés. Il s'agit d'une large famille comprenant 29 types différents.

Parmi les différents types de collagène, on retrouve en particulier le collagène de type I dans de nombreux tissus humains tels que tendons, ligaments, cornée et peau,
25 localisé plus précisément au niveau du derme. Le collagène de type I est le collagène majoritaire de la peau.

30 Le collagène fibrillaire est formé à partir des fibres de procollagène, ensuite assemblées en réseau, puis stabilisées par réticulation. C'est le collagène qui confère aux tissus leur résistance mécanique, et par voie de conséquence, participe au maintien de leur fermeté.

Au cours du vieillissement de la peau, le taux de collagène synthétisé diminue globalement et leur dégradation augmente ce qui entraîne une diminution de fermeté.

Ce phénomène est d'autant plus prononcé que la peau est entre autres soumise aux UV. On parle de vieillissement photobiologique.

Les molécules de la matrice extracellulaire sont donc l'objet de nombreuses études et innovations dans le domaine de la cosmétique pour la mise au point et l'amélioration d'actifs cosmétiques visant à maintenir les propriétés biomécaniques de la peau.

Depuis quelques années des techniques de séquençage génomique poussées ont mis en évidence que sur la peau vivent des millions de microorganismes (bactéries, virus, champignons) qui composent le microbiote cutané encore appelée flore cutanée. Ces microorganismes (ce microbiote) pour la plupart sont commensaux et bénéfiques à la peau. Ils cohabitent et interagissent avec les cellules cutanées et pour certains ont développé une symbiose avec la peau. Ils participent à la défense de la peau en synthétisant ou en stimulant la synthèse de molécules de défenses de la peau. Ils participent à la réparation de la peau en cas de lésion et luttent contre l'inflammation. Ces microorganismes commensaux bénéfiques sécrètent des molécules et des métabolites qui participent à l'homéostasie et à l'équilibre de la peau.

La composition et la qualité du microbiote de la peau évolue avec le vieillissement. De manière surprenante, la demanderesse a démontré qu'avec l'âge certaines bactéries étaient moins présentes et moins abondantes sur la peau. C'est notamment le cas de la bactérie *Lactobacillus crispatus*.

La plupart des solutions existant sur le marché traitent des conséquences visibles du vieillissement et ne prennent pas en compte le microbiote cutané dont certaines espèces vivent en symbiose avec les cellules cutanées et participent à son équilibre et à son aspect.

La présente invention a l'avantage d'être plus complète dans le sens où elle rééquilibre le microbiote d'une peau âgée en le complétant avec des bactéries de la flore cutanée qui diminuent avec le temps. Ces bactéries à leur tour participent au rajeunissement et à une protection durable de la peau contre les agressions extérieures, en relançant des processus biologiques qui diminuent avec l'âge.

Des bactéries probiotiques et leurs dérivés sont déjà utilisés pour traiter les problèmes de vieillissement cutané, mais dans la plupart des cas les bactéries utilisées ne

proviennent pas de la peau. La bactérie selon la présente invention présente l'avantage d'être naturellement présente sur la peau jeune.

5 La demande WO2009031106 divulgue l'utilisation d'une combinaison d'hespéridine et d'un probiotique pour prévenir la réduction ou renforcer la fonction barrière de la peau. La demande ne divulgue pas l'utilisation de souche de *Lactobacillus crispatus* pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses.

10 La demande WO2019111189 divulgue l'utilisation comprenant un probiotique du genre *Lactobacillus* pour la prévention des dommages induits par les radiations UV. La demande ne divulgue pas l'utilisation de souche de *Lactobacillus crispatus* pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses.

15 Ainsi, à la connaissance de la demanderesse, aucun art antérieur ne divulgue ni ne suggère l'utilisation cosmétique, nutraceutique et / ou pharmaceutique, notamment dermatologique d'une souche de *Lactobacillus crispatus* et / ou d'une composition la comprenant pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses, ni pour maintenir et / ou augmenter
20 les propriétés biomécaniques de la peau et / ou des muqueuses, ni pour maintenir et / ou augmenter l'expression des collagènes de la peau et / ou des muqueuses et / ou des fibres élastiques de la peau et / ou des muqueuses.

25 La présente invention a pour premier objet l'utilisation cosmétique et / ou nutraceutique d'une souche de *Lactobacillus crispatus* pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

30 Elle a également pour objet un procédé de soin cosmétique caractérisé en ce qu'il comprend l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et / ou de muqueuse saine d'une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention, ou d'une composition cosmétique la comprenant, pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement pour maintenir et / ou augmenter l'expression des

collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, notamment la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité, préférentiellement la fermeté.

5

L'invention a encore pour objet une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention, ou d'une composition dermatologique la comprenant, pour le traitement et / ou la prévention des pathologies de la peau et / ou des muqueuses impliquant une diminution de la quantité et/ou de l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses, notamment une diminution de la quantité et/ou de l'expression des collagènes de la peau et / ou des muqueuses et / ou des fibres élastiques de la peau et / ou des muqueuses, et / ou une diminution des propriétés biomécaniques de la peau et / ou des muqueuses, notamment une diminution de la fermeté de la peau et / ou des muqueuses et / ou de l'élasticité et / ou de la densité.

10

15

Elle concerne également une souche de *Lactobacillus crispatus* déposée suivant le traité de Budapest auprès de l'Institut Pasteur (28 rue du Docteur Roux, F-75024 Paris cedex 15) le 09/09/2020 sous la désignation CNCM I-5579 ou d'une composition cosmétique la comprenant, pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, notamment pour maintenir et / ou augmenter l'expression des collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, notamment la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité, préférentiellement la fermeté.

20

25

Elle concerne enfin une souche de *Lactobacillus crispatus* déposée suivant le traité de Budapest auprès de l'Institut Pasteur (28 rue du Docteur Roux, F-75024 Paris cedex 15) le 09/09/2020 sous la désignation CNCM I-5579 ou d'une composition dermatologique la comprenant, pour le traitement et / ou la prévention des pathologies de la peau et / ou des muqueuses impliquant une diminution de la quantité et/ou de l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses, notamment une diminution de la quantité et/ou de l'expression des

30

collagènes et / ou des fibres élastiques de la peau et / ou des muqueuses, et / ou une diminution de la quantité et/ou des propriétés biomécaniques de la peau et / ou des muqueuses, notamment une diminution de la fermeté de la peau et / ou des muqueuses et / ou une diminution de l'élasticité de la peau et / ou des muqueuses et / ou une diminution de la densité de la peau et / ou des muqueuses.

Au sens de la présente invention, on entend par « utilisation et / ou composition cosmétique », une utilisation et / ou composition non pharmaceutique, c'est-à-dire qui n'est pas destinée à un usage thérapeutique et est appliquée sur une partie du corps dite saine, en particulier sur une zone de la peau et / ou des muqueuses dite saine.

Au sens de la présente invention, on entend par « utilisation nutraceutique et / ou composition nutraceutique » une utilisation et / ou une composition destinée à être utilisée par voie orale non pharmaceutique, c'est-à-dire qui ne nécessite pas de traitement thérapeutique.

15

Au sens de la présente invention on entend par « peau saine », « muqueuse saine » une zone de peau, de muqueuse sur laquelle est appliquée la souche selon l'invention et dite « non pathologique » par un dermatologue, c'est-à-dire ne présentant pas d'infection, de cicatrice, de maladie ou d'affection cutanée telle que candidose, impétigo, psoriasis, eczéma, acné ou dermatite, ou de plaies ou de blessures.

20

Selon l'invention, on désigne par « muqueuse(s) », la muqueuse oculaire, la muqueuse nasale, la muqueuse auriculaire, la muqueuse uro-génitale et / ou la muqueuse buccale, notamment buccale, labiale et / ou gingivale, préférentiellement, la muqueuse oculaire et / ou buccale, et encore préférentiellement, la muqueuse labiale et / ou oculaire.

25

Avantageusement, elle ne comprend pas la muqueuse vaginale.

Au sens de la présente invention, on entend par « maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire », empêcher une diminution et / ou augmenter le niveau d'expression génique, c'est-à-dire des ARNm (ARN messagers), et / ou de la synthèse protéique des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, traitées par la souche selon l'invention, par rapport au niveau d'expression génique et / ou de synthèse

30

protéique détecté en l'absence de la souche selon l'invention. Préférentiellement, il s'agit du maintien et / ou de l'augmentation de l'expression protéique des molécules de la matrice extracellulaire.

5 Selon l'invention, on entend par « molécules de la MEC », les molécules organiques qui constituent et/ou sont contenues dans la matrice extracellulaire et qui sont synthétisées par des cellules, d'origine humaines ou animales.

Il s'agit notamment des protéines constitutives de la MEC, en particulier sélectionnées parmi :

- 10 - La famille des collagènes de la MEC,
- La famille des fibres élastiques de la MEC : l'élastine, la tropoélastine, les protéines associées à l'élastine notamment la fibrilline 1, les lysyl oxydases, notamment LOX et LOXL, l'EBP (Elastine Binding Protein), les fibullines 3 et 5, les Emilin 1 et 2.

15

Il s'agit notamment des protéoglycanes constitutifs de la MEC, en particulier les protéoglycanes sécrétés choisis parmi le Perlecan, le versican, les protéoglycanes riches en leucine (SLRPs) notamment la decorine, le biglycan et le lumican.

Il s'agit également des glycoprotéines constitutifs de la MEC, notamment la
20 fibronectine, la laminine, la SPARC (Secreted Protein Rich in Cystein), la tenascine .

Il s'agit en outre des glycosaminoglycans (GAG) constitutifs de la MEC, en particulier l'acide hyaluronique, heparane sulfate, dermatan sulfate, chondroïtine sulfate.

Il s'agit également des facteurs de croissance de la MEC qui sont des protéines
25 contenues dans la MEC, notamment le VEGF, le PDGF, le HGF, les FGF, et en particulier FGF2 et FGF 7.

Les « molécules de la MEC » désignent les molécules dans la MEC ou dans d'autres compartiments notamment intracellulaire et extracellulaire dans le milieu de culture, éventuellement sous forme de précurseurs.

Selon l'invention, on entend par « précurseur de molécule de la MEC » une forme
30 native et/ou intermédiaire de la molécule de la MEC, synthétisée par la cellule, avant de constituer ou être contenue dans la MEC. Ces formes subissent des phénomènes de maturation avant d'être dans la MEC et sont ainsi souvent désignées par les préfixes « Pro-» ou «Tropo- ». Il s'agit par exemple les procollagènes, les tropocollagènes, la proélastine, la tropoélastine.

Préférentiellement, les molécules de la matrice extracellulaire sont choisies parmi les collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou les fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

5

Au sens de la présente invention, on entend par « maintenir et / ou augmenter l'expression des collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines » empêcher une diminution et / ou augmenter le niveau d'expression génique, c'est-à-dire l'expression des ARNm (ARN messagers), et / ou de la synthèse protéique des collagènes de la

10 peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines traitées par la souche selon l'invention, par rapport à l'expression génique et / ou de la synthèse protéique mesurée en l'absence de la souche selon l'invention.

15 En particulier, il s'agit d'une augmentation du niveau d'expression génique et / ou de la synthèse protéique des collagènes et / ou des fibres élastiques d'au moins 20 %, préférentiellement d'au moins 40 % et encore plus préférentiellement d'au moins 50 %, par rapport au niveau d'expression génique et / ou protéique des collagènes et / ou des fibres élastiques mesuré en l'absence de la souche de *Lactobacillus crispatus*

20 selon l'invention.

Dans un mode préférentiel de l'invention, il s'agit d'une augmentation du niveau d'expression protéique de la fibuline-5 et / ou de l'emilin-1 d'au moins 20 %, préférentiellement d'au moins 40 % et encore plus préférentiellement d'au moins 50 %

25 par rapport au niveau d'expression protéique mesuré dans des cellules de fibroblastes dermiques cultivées *in vitro* en l'absence de la souche, comme par exemple tel que décrit dans l'exemple 3.

Avantageusement, la mesure de l'augmentation de l'expression protéique de fibuline-5 et/ou d'emilin-1 est effectuée par mesure *in vitro*, préférentiellement après analyse

30 par électrophorèse capillaire, par exemple selon la méthode telle que présentée en exemple 3.

Au sens de la présente invention, on entend par « analyse par électrophorèse capillaire », la technique consistant à fixer un anticorps spécifique de la protéine

étudiée fibuline-5 et / ou emilin-1, sur ladite protéine, conjugué à une peroxydase et un substrat chemiluminescent, en vue de la détection de la protéine par mesure du signal chemiluminescent.

5 Au sens de la présente invention, on entend par « collagène », les protéines de collagène de type I, III, IV, V, VI, VII, XII, XIII, XIV, XVI, XVII, XXIV, XXIX, présentes dans la peau saine et / ou les muqueuses saines. Selon un mode avantageux, les collagènes sont choisis parmi les collagènes de type I, III, IV, V et / ou XIV, préférentiellement les collagènes de type I, IV et / ou V, encore préférentiellement le
10 collagène de type I.

Au sens de la présente invention, on entend par protéine de « collagène de type I », la protéine de collagène présente dans la peau, la cornée, les tendons, les ligaments, les os, encore préférentiellement dans la peau. Ainsi, dans un mode préférentiel de
15 l'invention, la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention est donc utilisée pour maintenir et / ou augmenter l'expression protéique du collagène de type I au niveau de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

Selon un mode avantageux de l'invention, il s'agit d'une augmentation par rapport au
20 niveau d'expression génique et / ou protéique du collagène mesuré dans des cellules de fibroblastes dermiques cultivées *in vitro* en l'absence de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention.

Dans un mode préférentiel de l'invention, il s'agit d'une augmentation du niveau
25 d'expression protéique du collagène de type I d'au moins 10 %, préférentiellement d'au moins 50 % et encore plus préférentiellement d'au moins 20 % par rapport au niveau d'expression protéique mesuré dans des cellules de fibroblastes dermiques cultivées *in vitro* en l'absence de la souche selon le protocole tel que décrit par exemple dans l'exemple 2.

30

Avantageusement, la mesure de l'augmentation de l'expression protéique est effectuée par mesure *in vitro*, préférentiellement après dosage immunoenzymatique ou ELISA par exemple selon la méthode telle que présentée en exemple 2.

Au sens de la présente invention, on entend par « dosage immunoenzymatique », la technique consistant à fixer un anticorps spécifique d'une protéine donnée de collagène, préférentiellement la protéine de collagène de type I, sur ladite protéine, en vue d'une révélation par mesure de fluorescence. Avantageusement, la révélation se fait par fluorescence.

Selon un autre mode avantageux, la mesure de l'augmentation de l'expression génique est effectuée par mesure *in vitro*, préférentiellement après RT-qPCR.

Dans une forme d'exécution préférée, la souche selon l'invention est utilisée pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, encore préférentiellement la fermeté de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain et / ou l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain.

Au sens de la présente invention on entend par « propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines » la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité et / ou la résistance à la compression et / ou la résistance à l'étirement et / ou la flexibilité et / ou l'extensibilité et / ou la capacité à résister à la déformation de la peau saine et / ou des muqueuses saines. Préférentiellement il s'agit de la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain, encore préférentiellement il s'agit de de la fermeté de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain et / ou de l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain.

Les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines peuvent être étudiées par les techniques de mesure connues par l'homme du métier notamment par traction, par torsion, succion, indentation, levatométrie, ballistométrie, par scanner ultrason à haute résolution ou élastographie, préférentiellement par indentation, par scanner ultrason à haute résolution.

Au sens de la présente invention, on entend par « maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines » empêcher une diminution et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement la fermeté de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain, et / ou l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain, et / ou la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain, traité par la souche selon l'invention par rapport aux propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines mesurées en l'absence de la souche selon l'invention.

10

Préférentiellement, il s'agit d'une augmentation d'au moins 5%, préférentiellement 10% des propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines traitées par la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention par rapport aux propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines mesurées en l'absence de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention.

15

Au sens de la présente invention, on entend d'un point de vue cosmétique par « maintenir et / ou augmenter la fermeté de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain », empêcher la diminution et / ou augmenter à des fins esthétiques, la fermeté de la peau saine et / ou des muqueuses saines notamment celles qui ont perdu de la fermeté notamment sous l'effet de facteurs intrinsèques. Les facteurs intrinsèques peuvent être le vieillissement tissulaire de la peau et / ou des muqueuses, c'est-à-dire le vieillissement chrono-induit, que l'on retrouve par exemple chez les peaux dites matures c'est-à-dire les peaux de personnes de plus de 40 ans. Il peut s'agir du stress cellulaire, des variations physiologiques non pathologiques telles qu'un changement de régime alimentaire, des variations hormonales, en particulier durant la puberté, la grossesse, la ménopause et / ou l'andropause. Cette diminution de fermeté peut également apparaître sous l'effet de facteurs extrinsèques, tels que les agents agressifs de l'environnement comme par exemple la pollution, les fumées, le tabac, les toxines, ou les agressions climatiques et / ou mécaniques.

20

25

30

Selon un mode préférentiel, la diminution de fermeté n'est pas induite par les radiations UV.

Préférentiellement, il s'agit d'une augmentation de la fermeté au niveau de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain, d'au moins 1%, préférentiellement d'au moins 3%, encore avantageusement d'au moins 5% en présence d'une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention. Dans un mode de réalisation avantageux de l'invention, il s'agit d'une augmentation mesurée *in vivo*, préférentiellement sur la peau du visage humain.

Au sens de la présente invention, on entend d'un point de vue cosmétique par « maintenir et / ou augmenter l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain », empêcher la diminution et / ou entraîner l'augmentation à des fins esthétiques, de l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines qui ont perdu de l'élasticité notamment sous l'effet de facteurs intrinsèques, tels que le vieillissement tissulaire de la peau et / ou des muqueuses, c'est-à-dire le vieillissement chrono-induit, que l'on retrouve par exemple chez les peaux dites matures c'est-à-dire les peaux de personnes de plus de 40 ans, en particulier de plus de 50 ans, le stress cellulaire, les variations physiologiques non pathologiques telles que un changement de régime alimentaire, les variations hormonales, en particulier durant la puberté, la grossesse, la ménopause et / ou l'andropause. Cette diminution d'élasticité peut également apparaître sous l'effet de facteurs extrinsèques, tels que les agents agressifs de l'environnement, comme par exemple la pollution, les fumées, le tabac, les toxines, ou les agressions climatiques et / ou mécaniques.

Selon un mode préférentiel, la diminution d'élasticité n'est pas induite par les radiations UV.

On entend en outre par « augmenter l'élasticité » de la peau et / ou des muqueuses une augmentation de l'élasticité mesurée *in vivo*, d'au moins 2%, avantageusement d'au moins 4%, encore avantageusement d'au moins 6% en présence de la souche selon l'invention par rapport à l'élasticité détectée en l'absence de la souche. Dans un mode de réalisation préférentiel de l'invention, cette mesure est effectuée sur la peau du visage humain. Dans un mode préférentiel, cette augmentation est évaluée après

au moins 10, préférentiellement 28, encore préférentiellement 30 et avantageusement au moins 56 jours de traitement en présence de la souche selon l'invention.

De manière encore avantageuse, l'élasticité est évaluée par la mesure de ses différentes composantes de l'élasticité, notamment l'élasticité nette, la récupération élastique et/ou l'élasticité globale, notamment comme décrit dans l'exemple 4.

Au sens de la présente invention, on entend d'un point de vue cosmétique par « maintenir et / ou augmenter la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain », empêcher la diminution et / ou augmenter à des fins esthétiques, la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines notamment celles qui ont perdu de la densité notamment sous l'effet de facteurs intrinsèques. Les facteurs intrinsèques peuvent être le vieillissement tissulaire de la peau et / ou des muqueuses, c'est-à-dire le vieillissement chrono-induit, que l'on retrouve par exemple chez les peaux dites matures c'est-à-dire les peaux de personnes de plus de 40 ans. Il peut s'agir du stress cellulaire, des variations physiologiques non pathologiques telles qu'un changement de régime alimentaire, des variations hormonales, en particulier durant la puberté, la grossesse, la ménopause et / ou l'andropause. Cette diminution de densité peut également apparaître sous l'effet de facteurs extrinsèques, tels que les agents agressifs de l'environnement comme par exemple la pollution, les fumées, le tabac, les toxines, ou les agressions climatiques et / ou mécaniques.

Selon un mode préférentiel, la diminution de densité n'est pas induite par les radiations UV.

Préférentiellement, il s'agit d'une augmentation de la densité au niveau de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier du derme sain, d'au moins 1%, préférentiellement d'au moins 3%, encore avantageusement d'au moins 5% en présence d'une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention. Dans un mode de réalisation avantageux de l'invention, il s'agit d'une augmentation mesurée *in vivo*, préférentiellement sur la peau du visage humain.

La mesure *in vivo* de la fermeté et / ou de l'élasticité et / ou de la densité pourra être effectuée selon les méthodes classiques connues de l'homme de l'art, notamment par

mesure à l'aide d'un cutomètre, d'un Tonoderm™, d'un scanner à ultrason, ou encore d'un DynaSKIN® associé à un dermaTOP.

5 Selon la présente invention, la souche de *Lactobacillus crispatus* peut être utilisée sous forme entière, notamment viable et / ou inactivée, notamment morte, et / ou sous forme de lysat, et / ou sous forme de l'une ou plusieurs de ses fractions, et / ou sous forme d'un ou plusieurs de ses métabolites, préférentiellement de son sécrétome.

Pour chacune de ses formes, la souche selon l'invention peut être isolée ou associée à son milieu de fermentation et / ou de culture.

10

Préférentiellement, la souche selon l'invention est associée à son milieu de fermentation et / ou de culture.

15 Au sens de la présente invention, on entend par « isolée », non mélangée à un ou des composé(s) susceptible(s) de lui être associé(s) dans son milieu de fermentation et / ou de croissance.

20 Au sens de la présente invention, on entend par « forme entière » sa forme native, une forme dans laquelle l'enveloppe bactérienne est intacte, par opposition à une forme lysée. Lorsqu'elle est utilisée sous forme entière, la souche *Lactobacillus crispatus* peut être viable et / ou inactivée et / ou morte.

25 Au sens de la présente invention, on entend par « viable » une souche de *Lactobacillus crispatus* selon la présente invention capable de former des colonies en culture.

30

La production de la souche de *Lactobacillus crispatus* sous forme entière viable pourra être effectuée selon toute méthode classiquement connue de l'homme du métier. Avantageusement, elle sera effectuée selon le protocole tel que décrit par exemple dans l'exemple 1.a ou 1.f.

30

Au sens de l'invention, on entend par "inactivée" une souche de *Lactobacillus crispatus* selon la présente invention qui n'est plus capable, temporairement ou définitivement, de former des colonies en culture.

L'inactivation de la souche de *Lactobacillus crispatus* pourra être effectuée selon toute méthode classiquement connue de l'homme du métier. Elle peut notamment être inactivée par irradiation, traitement thermique ou, sous certaines conditions, par lyophilisation, par traitement haute pression ou par extrusion avantageusement, elle sera effectuée par traitement thermique, encore avantageusement selon le protocole tel que décrit par exemple dans l'exemple 1.b.

L'inactivation thermique peut être réalisée en incubant la souche de *Lactobacillus crispatus* pendant une période de temps donnée, avantageusement d'environ 10 s à 90 min, préférentiellement d'environ 15 minutes à une heure, et à une température avantageusement d'environ 60°C à 150 °C. Préférentiellement, elle sera incubée pendant environ 30 minutes à environ 80°C.

Au sens de l'invention, on entend par "morte", une souche de *Lactobacillus crispatus* selon la présente invention qui n'est plus capable, définitivement, de former des colonies en culture.

Au sens de l'invention, on entend par "lysate", un matériau obtenu à l'issue de la destruction ou dissolution de cellules biologiques par un phénomène dit de lyse cellulaire provoquant ainsi la libération des constituants biologiques intracellulaires naturellement contenus dans les cellules du microorganisme considéré et de fragments de composants de membrane cellulaire. Le lysate mis en œuvre est donc formé en l'ensemble les constituants biologiques intracellulaires et des constituants des parois et membranes cellulaires de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention.

Le lysate pourra être obtenu par toute méthode classiquement connue de l'homme du métier. Elle pourra notamment être obtenue par un choc osmotique, un choc thermique, par ultrasons, par lyse enzymatique, par tyndallisation, ou encore sous contrainte mécanique de type centrifugation, ou par augmentation de la pression ou des combinaisons de ces différentes technologies.

Préférentiellement, le lysat sera obtenu par combinaison d'action mécanique et d'augmentation de la pression. Encore préférentiellement, le lysat sera obtenu selon le protocole tel que décrit par exemple dans l'exemple 1.b.

- 5 Dans un mode de réalisation préférentiel de l'invention, le lysat sera associé au milieu de culture et / ou de fermentation de la bactérie.

Au sens de la présente invention, on entend par « fractions », un fragment de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon la présente invention doté d'une efficacité pour
10 maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines. Cette fraction correspond à une partie non totale des constituants biologiques intracellulaires et des constituants des parois et membranes cellulaires obtenu par lyse de la souche
15 de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention.

Selon un mode particulier de l'invention, les fractions peuvent être le protoplasme de la bactérie.

Dans un mode de réalisation préférentiel de l'invention, les fractions seront associées
20 au milieu de culture et / ou de fermentation de la bactérie.

Au sens de la présente invention, on entend par « métabolites » une ou plusieurs molécules organiques et / ou inorganiques issue du métabolisme de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon la présente invention et dotée également d'une efficacité
25 pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines. Préférentiellement, il s'agit du sécrétome de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention.

30 Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, les métabolites seront associés au milieu de culture et / ou de fermentation de la bactérie.

Au sens de la présente invention, on entend par « sécrétome », l'ensemble des molécules organiques sécrétées et / ou inorganiques sécrétées par la souche de

Lactobacillus crispatus selon la présente invention doté d'une efficacité pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

- 5 Le secrétome pourra être obtenu par toute méthode classiquement connue de l'homme du métier. Avantageusement, il sera obtenu selon le protocole tel que décrit par exemple dans l'exemple 1.d ou 1e.

10 Dans un mode de réalisation préférentiel de l'invention, le secrétome sera associé au milieu de culture et / ou de fermentation de la bactérie.

Selon un mode préférentiel de réalisation de l'invention, la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention sera utilisée sous forme entière viable et / ou sous forme de lysat.

15

La souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention pourra être issue de toute espèce connue de *Lactobacillus crispatus*. Préférentiellement, la souche de *Lactobacillus crispatus* est l'espèce déposée suivant le traité de Budapest auprès de l'Institut Pasteur (28 rue du Docteur Roux, F-75024 Paris cedex 15) le 09/09/2020 sous
20 la désignation CNCM I-5579.

L'avantage de cette souche particulière de *Lactobacillus crispatus* est qu'elle est la première espèce de *Lactobacillus crispatus* retrouvée naturellement sur la peau saine.

25 Selon l'invention, la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention peut être utilisée seule, sous forme d'ingrédient actif et / ou dans une composition cosmétique et / ou nutraceutique, et / ou pharmaceutique, notamment dermatologique, préférentiellement destiné(e) à une application par voie topique et / ou par voie orale, encore préférentiellement à une application par voie topique.

30 Lorsqu'elle est utilisée sous forme entière vivante selon l'invention, et qu'elle est utilisée seule, sous forme d'ingrédient actif, la souche selon l'invention peut être sous forme sèche, c'est-à-dire sous forme de poudre, avantageusement dans de la maltodextrine, préférentiellement en une teneur en souche de 10% à 80% (p / p) en

poids de la souche, préférentiellement de 30% à 70% (p / p), encore avantageusement de 40 à 60% (p/p) en poids de la souche par rapport au poids total de poudre.

5 Alternativement, la forme entière vivante selon l'invention peut être utilisée soluble et / ou diluée dans un solvant. Préférentiellement, ce solvant contient moins de 20% (v/v) en volume d'eau, encore préférentiellement moins de 5% (v/v) en volume d'eau, encore préférentiellement le solvant ne contient pas d'eau. Très préférentiellement, ce solvant est une huile cosmétiquement acceptable.

10 Lorsqu'elle est utilisée sous forme entière inactivée, notamment morte, et / ou sous forme de lysat, et / ou sous forme de l'une ou plusieurs de ses fractions, et / ou sous forme d'un ou plusieurs de ses métabolites, notamment de son sécrétome, et qu'elle est utilisée seule sous forme d'ingrédient actif, la souche selon l'invention peut être sous forme sèche, c'est-à-dire sous forme de poudre, avantageusement dans de la
15 maltodextrine, préférentiellement en une teneur en souche de 5% à 80% (p / p) en poids de la souche, préférentiellement de 10% à 70%(p / p) en poids de la souche, très préférentiellement d'environ 20% à 50% (p / p) en poids de la souche par rapport au poids total de poudre, encore avantageusement de 10% à 50% (p/p) en poids de la souche par rapport au poids total de poudre.

20 Alternativement, les formes entières inactivées, notamment mortes, et / ou les lysats, et / ou les fractions, et / ou les métabolites, notamment le sécrétome selon l'invention, peuvent être utilisés solubles et / ou dilués dans un solvant, notamment polaire, tel que l'eau, un alcool, un polyol, un glycol tel que le pentylène glycol et / ou l'hexylène glycol
25 et / ou le caprylyl glycol, ou un de leurs mélanges, préférentiellement un mélange hydroglycolique ou hydroalcoolique, encore préférentiellement comprenant un glycol choisi parmi l'hexylène glycol, le caprylyl glycol et leurs mélanges.

Dans un autre mode de réalisation, la souche selon l'invention peut être incorporée
30 dans une composition cosmétique et / ou nutraceutique comprenant au moins un excipient cosmétiquement acceptable et / ou nutraceutiquement acceptable. Préférentiellement, elle est incorporée dans une composition cosmétique comprenant au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

On entend, au sens de la présente invention, par excipient « cosmétiquement acceptable », un composé et / ou solvant topiquement acceptable, c'est-à-dire n'induisant pas de réponse allergique au contact de la peau, incluant le cuir chevelu humain, et / ou les muqueuses, non toxique, non instable, chimiquement.

5 Dans un mode de réalisation préférentiel de l'invention, la souche selon l'invention est présente dans la composition cosmétique et / ou dermatologique en une teneur comprise entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 10% (v / v) en volume, préférentiellement entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 5% (v / v) en volume, encore avantageusement entre $1 \times 10^{-3}\%$ et 3% (v / v) en volume, encore préférentiellement entre 0,1% et 2% (v / v) en volume, par rapport au volume
10 total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

Avantageusement, la souche selon l'invention est présente dans la composition cosmétique et / ou dermatologique, à une concentration de $1 \times 10^{-4}\%$ à 10% en poids,
15 préférentiellement entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 5% en poids, encore avantageusement entre $1 \times 10^{-3}\%$ et 0,5% en poids, par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

De manière particulièrement avantageuse, lorsque la souche selon l'invention est
20 utilisée sous forme d'un ou plusieurs de ses métabolites, notamment de son sécrétome, elle est présente dans la composition cosmétique et / ou dermatologique, à une concentration de 0,05 à 0,5% en poids, encore préférentiellement à une concentration d'environ 0,1% en poids, par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement
25 acceptable.

De manière particulièrement avantageuse, lorsque la souche selon l'invention est utilisée sous forme entière viable, elle est présente dans la composition cosmétique et / ou dermatologique, à une concentration de 0,01 à 0,1% en poids, encore
30 préférentiellement à une concentration d'environ 0,025% en poids, par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

La composition cosmétique et / ou dermatologique de l'invention peut être choisie parmi une solution, aqueuse ou huileuse, une crème ou un gel aqueux ou un gel huileux, notamment un gel douche, un shampoing ; un lait ; une émulsion, une microémulsion ou une nanoémulsion, notamment huile-dans-eau ou eau-dans-huile ou multiple ou siliconée ; un masque ; un sérum ; une lotion ; un savon liquide ; un pain dermatologique ; une pommade ; un baume ; un beurre ; une mousse ; un patch ; un produit anhydre, de préférence liquide, pâteux ou solide, par exemple sous forme de poudres de maquillage, de bâtonnet ou de stick, notamment sous forme de rouge à lèvres.

5 Il peut également s'agir d'un produit de maquillage ou d'un produit de démaquillage.

10

De façon avantageuse, la souche de *Lactobacillus crispatus* ou la composition de l'invention est destinée à être appliquée sur tout ou partie du corps et / ou du visage et / ou du cuir chevelu, préférentiellement les jambes, les cuisses, les bras, le ventre, le décolleté, le cou, les aisselles, les lèvres, encore préférentiellement tout ou partie du visage, et préférentiellement les joues, le front, le menton, les lèvres, le contour des yeux.

15

De façon avantageuse, la souche et / ou la composition la comprenant est destinée à être appliquée sur une zone de peau saine présentant un relâchement et / ou une zone de peau saine affaissée et / ou une zone de peau saine manquant de tonicité.

20 Ainsi, avantageusement la composition cosmétique est destinée à une application par voie topique sur la peau saine et / ou les muqueuses saines.

De manière préférentielle, la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention est particulièrement adaptée pour la formulation de composition dite neutre et douce pour le respect de la glande sébacée, notamment de la peau incluant le cuir chevelu et / ou des muqueuses.

25

De manière alternative, la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention peut se présenter sous toutes les formes galéniques classiquement utilisées pour une application par voie orale, notamment sous forme d'ingrédient actif nutraceutique et / ou de composition nutraceutique.

30

Les compositions selon l'invention peuvent contenir tout solvant approprié et / ou tout véhicule approprié et / ou tout excipient approprié, éventuellement en combinaison avec d'autres composés d'intérêt.

De ce fait, pour ces compositions, l'excipient contient par exemple au moins un composé choisi parmi le groupe comprenant les conservateurs, les émoullissants, les émulsifiants, les tensioactifs, les hydratants, les épaississants, les conditionneurs, les agents matifiants, les stabilisants, les antioxydants, les agents de texture, les agents de brillance, les agents filmogènes, les solubilisants, les pigments, les colorants, les parfums et les filtres solaires. Ces excipients sont de préférence choisis parmi le groupe consistant en les acides aminés et leurs dérivés, les polyglycérols, les esters, les polymères et dérivés de cellulose, les dérivés de Lanoline, les phospholipides, les lactoferrines, les lactoperoxydases, les stabilisants à base de sucrose, les vitamines E et ses dérivés, les cires naturelles et synthétiques, les huiles végétales, les triglycérides, les insaponifiables, les phytostérols, les esters végétaux, les silicones et ses dérivés, les hydrolysats de protéines, l'huile de Jojoba et ses dérivés, les esters lipo/hydrosolubles, les bétaïnes, les aminoxydes, les extraits de plantes, les esters de Saccharose, les dioxydes de Titane, les glycines, et les parabens, et encore de préférence parmi le groupe consistant en le butylène glycol, le stéareth-2, le stéareth-21, le glycol-15 stéaryl éther, le cétéaryl alcool, le phénoxyéthanol, le méthylparaben, l'éthylparaben, le propylparaben, le butylparaben, le butylène glycol, les tocophérols naturels, la glycérine, le dihydroxycétyl sodium phosphate, l'isopropyl hydroxycétyl éther, le glycol stéarate, la triisononanoïne, l'octyl cocoate, le polyacrylamide, l'isoparaffine, le laureth-7, un carbomer, le propylène glycol, le glycérol, le bisabolol, une diméthicone, l'hydroxyde de sodium, le PEG 30-dipolyhydroxystéarate, les triglycérides caprique/caprylique, le cétéaryl octanoate, le dibutyl adipate, l'huile de pépin de raisin, l'huile de jojoba, le sulfate de magnésium, l'EDTA, une cyclométhicone, la gomme de xanthane, l'acide citrique, le lauryl sulfate de sodium, les cires et les huiles minérales, l'isostéaryl isostéarate, le dipélargonate de propylène glycol, l'isostéarate de propylène glycol, le PEG 8, la cire d'abeille, les glycérides d'huile de cœur de palme hydrogénée, les glycérides d'huile de palme hydrogénée, l'huile de lanoline, l'huile de sésame, le cétyl lactate, le lanoline alcool, l'huile de ricin, le dioxyde de titane, le lactose, le saccharose, le polyéthylène basse densité, une solution isotonique salée, et leurs mélanges.

De nombreux ingrédients cosmétiquement actifs sont connus par l'homme du métier pour améliorer la santé et / ou l'apparence physique de la peau (y compris le cuir chevelu) et / ou des muqueuses. L'homme du métier sait formuler les compositions cosmétiques, nutraceutiques ou dermatologiques pour obtenir les meilleurs effets.

5 D'autre part, ces composés peuvent avoir un effet de synergie lorsqu'ils sont combinés les uns aux autres. Ces combinaisons sont également couvertes par la présente invention. Le CTFA Cosmetic Ingredient Handbook, Second Edition (1992) décrit différents ingrédients cosmétiques et pharmaceutiques utilisés couramment dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique, qui sont en particulier adaptés à une

10 utilisation topique. Des exemples de ces classes d'ingrédients comprennent, sans en être limités, les composés suivants: abrasifs, absorbants, composés à but esthétique tel que les parfums, les pigments, les colorants, les huiles essentielles, les astringents, etc. (par exemple: l'huile de clou de girofle, menthol, camphre, l'huile d'eucalyptus, eugénol, menthyl lactate, distillat d'hamamélis), les agents anti-acné, les agents anti-

15 floculants, les agents antimousse, les agents antimicrobiens (par exemple: iodopropyl butylcarbamate), les antioxydants, les liants, les additifs biologiques, les agents tampons, les agents gonflants, les agents chélatants, les additifs, les agents biocides, les dénaturants, les épaississants, et les vitamines, et les dérivés ou équivalents de ceux-ci, les matériaux formant des films, les polymères, les agents opacifiants, les

20 ajusteurs de pH, les agents réducteurs, les agents dépigmentants ou éclaircissants (par exemple : hydroquinone, acide kojique, acide ascorbique, magnésium ascorbyl phosphate, ascorbyl glucosamine), les agents de conditionnement (par exemple : les humectants).

25 La composition cosmétique pourra comprendre par ailleurs d'autres agents cosmétiques et / ou nutraceutiques possédant les mêmes propriétés et induisant un effet synergique ou non avec la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention, ou des agents cosmétiques à effets complémentaires.

Il peut s'agir par exemple d'ingrédients anti-rides, agents stimulant l'activité ou la

30 prolifération des fibroblastes, agents stimulant les molécules de la matrice extra-cellulaire.

Il peut s'agir par ailleurs d'ingrédients actifs anti-âge et / ou agents tenseurs pour un effet de synergie avec la souche de *Lactobacillus crispatus*. Avantageusement, il s'agit

d'ingrédients actifs augmentant l'expression génique et / ou protéique du collagène ou d'ingrédients actifs empêchant la dégradation du collagène tels que le rétinol, la vitamine C, un extrait de *Davilla rugosa* commercialisé sous le nom de Collguard™ par BASF Beauty Care Solutions, un extrait de graine d'*Hibiscus abelmoschus* commercialisé sous le nom de Linefactor™, un peptide commercialisé sous le nom de Dermican™ par la demanderesse ou encore les produits commercialisés sous les noms de Matrixyl™, Matrixyl 3000™ et Regestril™ par la société Sederma ou Neuroguard par la société Codif, ou encore Eternaline™ par la société Silab.

10 Les agents tenseurs utilisables dans l'invention peuvent être choisis parmi les polymères synthétiques, tels que les latex de polyuréthane ou les latex acryliques, les polymères d'origine naturelle, notamment les polyholosides sous forme d'amidon ou sous forme de carraghénanes, alginates, agars, gellanes, polymères cellulosiques et pectines; les protéines et hydrolysats de protéines végétales ; les silicates mixtes ;
15 les microparticules de cire ; les particules colloïdales de charge inorganique choisies par exemple parmi la silice, les composites silice-alumine ; ainsi que leurs mélanges.

Il peut enfin s'agir d'ingrédients cosmétiques comme par exemple des agents antimicrobiens, agents anti-radicalaires, agents apaisants, calmants ou relaxants, agents agissant sur la microcirculation pour améliorer l'éclat du teint, en particulier du visage, agents cicatrisants ou agents amincissants. Avantageusement la composition cosmétique et / ou dermatologique de la présente invention contient également un ou plusieurs agents tenseurs et / ou un ou plusieurs agents antimicrobiens et / ou un ou plusieurs agents antiradicalaires et / ou un ou plusieurs agents apaisants et / ou un ou plusieurs agents amincissants et / ou un ou plusieurs agents actifs sur la microcirculation.

Parmi les agents antimicrobiens associés à la souche de *Lactobacillus crispatus* dans un mode préférentiel la présente invention, on peut citer le 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy diphenyl éther (ou triclosan), le 3,4,4'-trichlorobanilide, le phénoxyéthanol, le phénoxypropanol, le phénoxyisopropanol, l'hexamidine iséthionate, le métronidazole et ses sels, le miconazole et ses sels, l'itraconazole, le terconazole, l'éconazole, le ketoconazole, le saperconazole, le fluconazole, le clotrimazole, le butoconazole, l'oxiconazole, le sulfaconazole, le sulconazole, la terbinafine, l'acide undécylénique et ses sels, le peroxyde de benzoyle, l'acide 3-hydroxy benzoïque, l'acide 4-hydroxy

benzoïque, l'acide phytique, l'acide N-acétyl-L-cystéine, l'acide lipoïque, l'acide azélaïque et ses sels, l'acide arachidonique, le résorcinol, l'octoxyglycérine, l'octanoylglycine, le caprylyl glycol, l'acide 10-hydroxy-2-décanoïque, le farnesol, les phytosphingosines et leurs mélanges.

5

Les agents anti-radicalaires peuvent être la vitamine C et ses dérivés dont le glucoside d'ascorbyle, les phénols et polyphénols, en particulier les tannins, l'acide ellagique et l'acide tannique; l'épigallocatechine et les extraits naturels en contenant, en particulier les extraits de thé vert; les anthocyanes; les acides phénols, les stilbènes; des actifs piégeurs de composés aromatiques mono- ou polycycliques, les tannins tels que l'acide ellagique et les dérivés indoles et / ou des actifs piégeurs de métaux lourds tels que l'EDTA, des actifs anti-radicalaires tels que la vitamine E et ses dérivés tels que l'acétate de tocophéryle ; les bioflavonoïdes; la coenzyme Q10 ou ubiquinone.

10

15 Comme agents apaisants entrant dans la composition de l'invention, on peut utiliser les triterpènes pentacycliques, l'acide ursolique et ses sels, l'acide oléanolique et ses sels, l'acide bétulinique et ses sels, les sels de l'acide salicylique et en particulier le salicylate de zinc, le bisabolol, l'allantoïne, les huiles insaturées en oméga 3, la cortisone, l'hydrocortisone, l'indométhacine et la beta méthasone, les actifs anti-
20 inflammatoires, et notamment ceux décrits dans la demande FR2847267, en particulier l'extrait de racine de *Pueraria lobata* commercialisé sous le nom Inhipase™ par la demanderesse, les extraits de Theobroma cacao.

20

Les ingrédients actifs agissant sur la microcirculation, vasoprotecteurs ou vasodilatateurs, peuvent être choisis parmi les flavonoïdes, les ruscogénines, les
25 nicotines, les huiles essentielles.

25

Les actifs amincissants peuvent être notamment choisis parmi les agents inhibiteurs de la lipoprotéine lipase tels que ceux décrits dans le brevet US2003086949 (Coletica) et en particulier un extrait de liane du Pérou (*Uncaria tomentosa*); les actifs drainants,
30 notamment l'hesperitine laurate (Flavagrum™), ou quercitine caprylate (Flavenger™); les agents inhibiteurs de l'enzyme phosphodiesterase, les agents activateurs de l'adenylate cyclase, l'AMPc et / ou les actifs capable de piéger la spermine et / ou la spermidine. On peut citer un extrait de racine de *Coleus Forskohlii*, un extrait de *Cecropia obtusa*, d'*Uva lactuca*, la caféine, la forskoline, la théophylline, la

30

théobromine et / ou leurs dérivés, un produit de kappa carraghénanes hydrolysé dénommé Slimexcess™ commercialisé par la demanderesse et / ou leurs mélanges.

5 La présente invention a également pour objet un procédé de soin cosmétique comprenant l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et / ou de muqueuse saine d'une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention, ou d'une composition cosmétique la comprenant, pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement pour maintenir et / ou augmenter l'expression des
10 collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, notamment la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité, préférentiellement la fermeté.

15 De manière avantageuse, la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention, préférentiellement sous la forme d'une composition cosmétique selon l'invention, est utilisée en application topique régulière et préférentiellement au moins une fois par jour, avantageusement deux fois par jour, pendant au moins 10 jours, préférentiellement pendant 20 jours, et encore préférentiellement pendant au moins
20 28 jours.

De manière avantageuse, l'application par voie topique d'une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention ou d'une composition cosmétique la comprenant, est effectuée sur tout ou partie du corps et / ou du visage et / ou du cuir chevelu, préférentiellement les jambes, les cuisses, les bras, le ventre, le décolleté, le cou, les
25 aisselles, les lèvres, encore préférentiellement tout ou partie du visage, et préférentiellement les joues, le front, le menton, les lèvres, le contour des yeux.

Le procédé de soin cosmétique selon l'invention pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des
30 muqueuses saines, préférentiellement pour maintenir et / ou augmenter l'expression des collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses

saines, notamment la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité, préférentiellement la fermeté, comprend avantageusement les étapes suivantes :

- 5 - L'identification sur l'individu d'une zone de peau saine et / ou de muqueuse saine, pour laquelle on souhaite maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement maintenir et / ou augmenter l'expression des collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, notamment la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité, préférentiellement la fermeté, et
- 10 - L'application topique sur cette zone de peau saine et / ou de muqueuse saine, d'une composition cosmétique comprenant la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention, en une quantité efficace pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement pour maintenir et / ou augmenter l'expression des collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, notamment la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité, préférentiellement la fermeté, à savoir en une teneur
- 20 de souche de *Lactobacillus crispatus* comprise :
 - entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 10% (v / v) en volume, préférentiellement entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 5% (v / v) en volume, encore avantageusement entre $1 \times 10^{-3}\%$ et 3% (v / v) en volume, encore préférentiellement entre 0,1% et 2% (v / v) en volume, par rapport au volume total de la composition, et/ou
 - 25 - entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 10% (p / p) en poids, préférentiellement entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 5% (p / p) en poids, encore avantageusement entre $1 \times 10^{-3}\%$ et 0,5% (p / p) en poids, par rapport au poids total de la composition.

30 Au sens de la présente invention, on entend par « voie topique », l'application locale directe et / ou la vaporisation de la souche de *Lactobacillus crispatus* ou de la composition selon l'invention sur la surface de la zone de peau saine et / ou de muqueuse saine.

Au sens de la présente invention, on entend par « topiquement et / ou oralement acceptable », un ingrédient adapté à une application respectivement par voie topique et / ou orale, non toxique, non irritant pour la peau y compris le cuir chevelu et n'induisant pas de réponse allergique, et qui n'est pas instable sur le plan chimique.

5

L'invention a également pour objet la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention, seule ou dans une composition dermatologique la comprenant, pour son utilisation, avantageusement par voie topique pour le traitement et / ou la prévention des pathologies de la peau et / ou des muqueuses impliquant une diminution de la quantité et/ou l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses, et / ou une diminution de la quantité et/ou de l'expression des collagènes et / ou des fibres élastiques de la peau et / ou des muqueuses, et / ou une diminution de la quantité et/ou des propriétés biomécaniques de la peau et / ou des muqueuses, notamment une diminution de la fermeté de la peau et / ou des muqueuses et/ou une diminution d'élasticité de la peau et / ou des muqueuses, et/ou une diminution de la densité de la peau et / ou des muqueuses.

10

15

Au sens de la présente invention, on entend d'un point de vue dermatologique par « traitement et / ou prévention des pathologies de la peau et / ou des muqueuses impliquant une diminution de la fermeté de la peau et / ou des muqueuses », une augmentation à des fins thérapeutiques de la fermeté de la peau et / ou des muqueuses qui ont perdu de la fermeté sous l'effet de pathologies de la peau et / ou des muqueuses comme par exemple la couperose, les télangiectasies.

20

Au sens de la présente invention, on entend d'un point de vue dermatologique par « traitement et / ou prévention des pathologies de la peau et / ou des muqueuses impliquant une diminution d'élasticité de la peau et / ou des muqueuses », une augmentation à des fins thérapeutiques de l'élasticité de la peau et / ou des muqueuses qui ont perdu de leur élasticité sous l'effet de pathologies de la peau et / ou des muqueuses comme par exemple l'élastose solaire et / ou la pathologie cutis laxa.

25

30

Au sens de la présente invention, on entend d'un point de vue dermatologique par « traitement et / ou prévention des pathologies de la peau et / ou des muqueuses

impliquant une diminution de densité de la peau et / ou des muqueuses » une augmentation à des fins thérapeutiques de la densité de la peau et / ou des muqueuses qui ont perdu de leur densité sous l'effet de pathologies de la peau et / ou des muqueuses comme par exemple le syndrome Ehlers-Danlos et / ou la dermatoporose.

5

La souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention peut se trouver sous la forme d'une composition pharmaceutique, préférentiellement dermatologique, comprenant au moins un excipient pharmaceutiquement et / ou dermatologiquement, acceptable. Dans un mode de réalisation de l'invention, ladite composition est appliquée par voie topique et / ou orale, préférentiellement par voie topique.

10

Avantageusement, elle est présente dans la composition pharmaceutique, préférentiellement dermatologique, à une concentration de $1 \times 10^{-4}\%$ à 10% en poids, préférentiellement entre $1 \times 10^{-4}\%$ et 5% en poids, encore avantageusement entre $1 \times 10^{-3}\%$ et 0,5% en poids par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

15

Avantageusement, la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention est présente dans la composition pharmaceutique, préférentiellement dermatologique, à une concentration de $1 \times 10^{-4}\%$ à 10% (v / v) en volume, préférentiellement de $1 \times 10^{-4}\%$ à 5% (v / v) en volume, encore avantageusement de $1 \times 10^{-3}\%$ à 0,5% (v / v) en volume, encore préférentiellement entre 0,1% et 2% (v / v) en volume, par rapport au volume total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

20

25

L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description des figures et des exemples qui suivent.

Des exemples faisant référence à la description de l'invention sont présentés ci-après. Ces exemples sont donnés à titre d'illustration et ne sauraient limiter en aucun cas la portée de l'invention. Chacun des exemples a une portée générale.

30

Les exemples font partie intégrante de la présente invention et toute caractéristique apparaissant nouvelle par rapport à un état de la technique antérieure quelconque à partir de la description prise dans son ensemble, incluant les exemples, fait partie intégrante de l'invention.

D'autre part, dans les exemples, tous les pourcentages sont donnés en poids, sauf indication contraire, la température est exprimée en degré Celsius sauf indication contraire, et la pression est la pression atmosphérique, sauf indication contraire.

Exemple 1. Préparation de différentes formes de *Lactobacillus crispatus*

Exemple 1.a : production de forme entière viable de *L. crispatus*.

Les bactéries *L. crispatus* (CNCM I-5579) isolées ont étéensemencées dans un milieu de culture de type MRS, incubées à 37°C en anaérobie. Le pH a été maintenu à une valeur de pH = 6, et le milieu a été incubé 24h. En fin d'incubation, le milieu a été centrifugé, le concentré cellulaire a été resuspendu dans le milieu de fermentation et lyophilisé en présence de maltodextrine, pour une quantité finale de maltodextrine de 70% (p/p) en poids par rapport au poids total de l'ingrédient.

10 **Exemple 1.b :** production de la forme entière inactivée de *L. crispatus*

Les bactéries *L. crispatus* (CNCM I-5579) isolées ont étéensemencées dans un milieu de culture de type MRS, incubées à 37°C en anaérobie. Le pH a été maintenu à une valeur de pH = 6, et le milieu a été incubé 24h. En fin d'incubation le milieu est centrifugé, le concentré cellulaire est inactivé en le chauffant à 80°C pendant 30 minutes. Le concentré cellulaire a ensuite été re suspendu dans de la glycérine.

Exemple 1.c : production du lysat de la bactérie *L. crispatus*

Les bactéries *L. crispatus* (CNCM I-5579) isolées ont étéensemencées dans un milieu de culture de type MRS, incubées à 37°C en anaérobie. Le pH a été maintenu à une valeur de pH = 6, et le milieu a été incubé 24h. En fin d'incubation l'ensemble est passé à l'homogénéisateur haute pression. Le lysat a ensuite été re suspendu dans de la glycérine.

Exemple 1.d : production du sécrétome de la bactérie *L. crispatus*

25 Les bactéries *L. crispatus* (CNCM I-5579) isolées ont étéensemencées dans un milieu de culture de type MRS, incubées à 37°C en anaérobie. Le pH a été maintenu à une valeur de pH = 6, et le milieu a été incubé 24h. En fin d'incubation le milieu est filtré pour récupérer le sécrétome de la bactérie. Le sécrétome a ensuite été re suspendu dans de la glycérine.

30

Exemple 1.e : production du sécrétome de la bactérie *L. crispatus* sous forme de poudre

Les bactéries *L. crispatus* (CNCM I-5579) isolées ont étéensemencées dans un milieu de culture de type MRS, incubées à 37°C en anaérobie. Le pH a été maintenu à une

valeur de pH = 6, et le milieu a été incubé 24h. En fin d'incubation le milieu a été filtré pour récupérer le sécrétome de la bactérie. Le sécrétome a ensuite été atomisé avec de la maltodextrine, pour une quantité finale de maltodextrine de 90% (p/p) en poids par rapport au poids total de l'ingrédient.

5

Exemple 1.f : production de forme entière viable de *L. crispatus*.

Les bactéries *L. crispatus* (CNCM I-5579) isolées ont étéensemencées dans un milieu de culture de type MRS, incubées à 37°C en anaérobie. Le pH a été maintenu à une valeur de pH = 6, et le milieu a été incubé 24h. En fin d'incubation, le milieu a été centrifugé, le concentré cellulaire a été resuspendu dans le milieu de fermentation et lyophilisé en présence de maltodextrine, pour une quantité finale de maltodextrine de 50% (p/p) en poids par rapport au poids total de l'ingrédient.

10

Exemple 2 : Augmentation de l'expression de collagène de type I par les fibroblastes en présence la souche de *L. crispatus* selon l'invention.

15

Des fibroblastes humains dits « normaux », c'est-à-dire ne présentant pas de pathologie, issus d'une donneuse saine de 34 ans ont étéensemencés en plaque 24 puits puis cultivés dans un milieu DMEM jusqu'à confluence.

L'incubation a été poursuivie 48 heures en présence des bactéries *L. crispatus* selon l'exemple 1.aensemencées dans des nacelles au-dessus des puits de culture dans un milieu MRS dilué avec du PBS à une concentration de 10⁶ CFU/mL. Le même milieu de culture sans ajout de la souche selon l'invention a été utilisé comme témoin (Contrôle).

En fin d'incubation, les bactéries ont été éliminées et les cellules ont été lysées à l'aide d'un tampon hydroxyde d'ammonium. Le tampon a ensuite été éliminé, et les puits ont été saturés avec un mélange de PBS/ BSA (Phosphate Buffer Saline / Bovine sérum albumine).

20

Après saturation, l'anticorps primaire anti-collagène I (Interchim / Acris, Montluçon, France, LH0284 / R1038) a été incubé quelques minutes, suivi de l'anticorps secondaire conjugué Europium (Perkin Elmer) la fluorescence est ensuite mesurée à (λexc. 340 nm / λem. 615 nm) en utilisant un lecteur de plaque à étiquettes multiples EnVision® (Perkin Elmer).

30

Les résultats de fluorescence ont été normalisés par rapport à la fluorescence obtenue avec le même milieu cellulaire en l'absence la souche de *L. crispatus* selon l'invention (Contrôle) et ont été rapportés à la quantité d'ADN obtenue dans chaque condition. Les résultats présentés correspondent à la moyenne de 6 essais (n=6).

5 Résultats

	Contrôle (milieu de culture)	Souche de <i>L. crispatus</i> selon l'exemple 1.a
Moyenne de stimulation (%)	100	165
Ecart type	26	32
Statistique /Control (One way ANOVA)	-	(*) p<0.05

La souche de *L. crispatus* selon l'exemple 1.a produit de l'invention a montré une stimulation significative du collagène I par les fibroblastes cutanés humain cultivés *in vitro*. Elle peut donc être utilisée pour augmenter la fermeté de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

Exemple 3 : Augmentation de l'expression des protéines Fibuline-5 et Emilin-1 impliquées dans la formation des fibres élastiques par les fibroblastes en présence la souche de *L. crispatus* selon l'invention.

Des fibroblastes humains dits « normaux » c'est-à-dire ne présentant pas de pathologie, issus d'une donneuse saine de 19 ans ont été cultivés dans un milieu FGM (Fibroblast Growth Medium). Une fois mis en culture, l'incubation a été poursuivie pendant 48h en présence du sécrétome de la bactérie *L. crispatus* obtenus selon l'exemple 1.e à une concentration de 0,1% (p/p) par rapport au poids total du milieu de culture et du sécrétome. Le même milieu de culture sans ajout de la souche selon l'invention a été utilisé comme témoin (Contrôle).

A la fin de l'incubation, le milieu de culture a été retiré et les cellules ont été lysées à l'aide d'un tampon de lyse.

La fibuline-5 et l'Emilin-1 ont été identifiées et quantifiées par un système d'analyse des protéines basé sur l'électrophorèse capillaire. Une quantité de protéines issue des lysats cellulaires, à savoir 0,2 mg/mL de lysat pour fibuline-5 et 0,2 mg/mL de surnageant du lysat pour Emilin-1, a été déposé dans des capillaires dans lesquels il a été ajouté un anticorps primaire anti-fibulin-5 ou un anticorps anti-Emilin-1 suivi d'un anticorps secondaire conjugué à la peroxydase de raifort et d'un substrat chemiluminescent. L'ensemble a été incubé 30 minutes, puis le signal chemiluminescent résultant de la détection de la protéine fibuline-5 a été quantifiée par électrophorèse capillaire à l'aide d'un logiciel adapté.

Les résultats sont la moyenne des essais effectués \pm l'écart-type, exprimé en pourcentage, par rapport au contrôle non traité normalisé à 100%. L'analyse statistique des résultats a été faite par rapport au témoin non traité en utilisant le test One-Way ANOVA. Le seuil de significativité est placé à 5%.

Résultats

15

	Contrôle (Milieu de culture)	Sécrétome de <i>L.crispatus</i> selon l'exemple 1.e à 0.1% (p/p)
Moyenne de stimulation de la Fibuline-5 en %	100	150
Ecart -type	8.2	16.6
Statistiques	NA	P<0.001

Le sécrétome de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.e de l'invention a montré une augmentation significative de 50% de l'expression protéique de la Fibuline-5 par les fibroblastes cutanés humains cultivés *in vitro*. Ainsi, la souche de *Lactobacillus crispatus*, et en particulier son sécrétome peut donc être utilisée pour augmenter l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

20

	Contrôle (Milieu de culture)	Sécrétome de <i>L. crispatus</i> selon l'exemple 1.e à 0.1% (p/p)
Moyenne de stimulation de Emilin-1 en %	100	153.1
Ecart -type	12.7	15.1
Statistiques	NA	P<0.001

Le sécrétome de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.e de l'invention a montré une augmentation significative de 53% de l'expression protéique de l'Emilin-1 par les fibroblastes cutanés humains cultivés *in vitro*. Ainsi, la souche de

Lactobacillus crispatus et en particulier son sécrétome peut donc être utilisée pour augmenter l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

Exemple 4 : Mesure in vivo de l'augmentation de l'élasticité de la peau en présence de la souche de *L. crispatus* selon l'invention.

Une population de 30 femmes âgées de 40 à 50 ans ayant une diminution de l'élasticité de la peau au niveau du visage a appliqué en héli-visage une crème sous forme d'émulsion telle que décrite en exemple 7b), comprenant une concentration finale en poids du sécrétome de la souche *L. crispatus* selon l'exemple 1.e de 1% (p/p) par rapport au poids total de la crème ou sous forme de la même émulsion dite placebo dans laquelle ledit sécrétome a été remplacé par de l'eau, à raison de 2 applications par jour et pendant 2 mois.

L'évaluation des propriétés biomécaniques de la peau a été réalisée en utilisant un cutomètre®. Cet équipement d'évaluation clinique a la capacité de mesurer 3 paramètres distincts que sont l'élasticité globale, l'élasticité immédiate, ainsi que la récupération élastique de la peau, qui vont tous 3 refléter l'élasticité de la peau. De ces mesures ont été déduits différents paramètres reflétant l'état de l'élasticité de la peau.

L'élasticité globale, immédiate, ainsi que la récupération élastique de la peau ont été mesurées par le cutomètre® au début de l'étude (D0), après un mois d'application (D28) et enfin après 2 mois d'application (D56).

L'efficacité du sécrétome de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.e a été comparée à celle obtenue avec l'émulsion placebo.

Résultats

	Formulation placebo		Formulation contenant la souche de <i>L.crispatus</i> selon l'exemple 1.e à 0.1% (p/p)	
	A D28	A D56	A D28	A D56
Pourcentage d'amélioration de l'élasticité globale	1.1%	2.7%	+4.4% (p<0.001 vs D0) et p<0.05 vs placebo	+12% p<0.001 vs D0 et vs placebo)
Pourcentage d'amélioration de l'élasticité nette	5.9% (p<0.05 vs D0)	1.6%	5.8% (p<0.05 vs D0)	11.7% (p<0.001 vs D0 et vs Placebo)
Pourcentage d'amélioration de la récupération élastique	2.9%	2.7%	4.7% (p<0.001 vs D0)	12.5% (p<0.001 vs D0 et vs Placebo)

Après 2 mois d'utilisation, la formulation contenant le sécrétome de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.e a induit une augmentation significative de

tous les paramètres de l'élasticité. Cette augmentation est significative par rapport au début de l'étude DO mais également par rapport au placebo.

Ces résultats montrent l'effet bénéfique de la souche de *Lactobacillus crispatus* mise en formulation, en particulier son sécrétome pour maintenir et / ou augmenter in vivo les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier l'élasticité de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

Exemple 5 : Mesure in vivo de l'augmentation de la densité de la peau en présence de la souche de *L. crispatus* selon l'invention.

Une population de 31 femmes âgées de 45 à 65 ans ayant des rides au niveau du front et une diminution des propriétés biomécanique de la peau au niveau du visage a appliqué en héli-visage une crème sous forme d'émulsion telle que décrite dans la formulation présentée en exemple 7.c, comprenant une concentration finale en poids de la souche *L. crispatus* obtenue selon l'exemple 1.f de 0,05% (p/p) par rapport au poids total de la crème ou sous forme de la même émulsion dite placebo dans laquelle ladite souche a été remplacée par de l'eau, à raison de 2 applications par jour et pendant 2 mois.

L'évaluation de la densité de la peau a été réalisée à l'aide d'un Scanner équipé d'une sonde ultrason. Le Scanner permet de visualiser la densité de la peau qui est le reflet de la synthèse des composés de la matrice extracellulaire.

L'amélioration de la densité de la peau ainsi que de son épaisseur ont été mesurées au début de l'étude (D0) après un mois d'application (D28) et enfin après 2 mois d'application (D56).

L'efficacité de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.f a été comparée à celle d'une émulsion placebo.

Résultats

	Formulation placebo	Formulation contenant la souche de <i>L.crispatus</i> selon l'exemple 1.f à 0.05% (p/p)
	A D56	A D56
Pourcentage d'augmentation de la densité du derme vs D0	Non significatif	+6% (p<0.05 vs D0 et Vs placebo)

Après 2 mois d'utilisation, la formulation de la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.f a induit une augmentation significative de la densité de la peau. Cette

augmentation est significative par rapport au début de l'étude DO mais également par rapport au placebo.

Ces résultats montrent l'effet bénéfique de la souche de *Lactobacillus crispatus* mise en formulation pour maintenir et / ou augmenter in vivo les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, en particulier la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines.

Exemple 6 : Exemple d'ingrédient cosmétique comprenant la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention

10

Extrait <i>Lactobacillus crispatus</i> selon l'exemple 1.c	0,2%
Glycérine	80%
Eau	QSP 100

Exemple 7 : Exemple de composition cosmétique comprenant la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'invention

Exemple 7.a : Exemple de composition cosmétique comprenant la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.c

15

On procède selon les méthodes connues de l'homme du métier pour mélanger ensemble les différentes phases A, B, C, D ci-dessous pour préparer une composition selon la présente invention. Les proportions sont exprimées en % et les noms en majuscules correspondent aux noms INCI des ingrédients.

20

Phase A

GLYCERYL STEARATE AND PEG-100 STEARATE	4,00
PENTAERYTHRITYL DISTEARATE	1,50
CETEARYL ISONONANOATE	3,00
PROPYLHEPTYL CAPRYLATE	5,00
25 COCO CAPRYLATE	2,00
DICAPRYLYL CARBONATE	3,00
DIMÉTHICONE	1,00

Phase B

	Eau	64,43
	Propylène glycol, phénoxyéthanol, chlorphénésine, méthylparabène	1,00
	Glycérine	1,57
5	Gomme de xanthane	0,20
	Butylène glycol	2,00
	Hydroxyde de sodium, eau	0,15

Phase C

10	Carbomère	0,15
	Eau	10

Phase D

15	Extrait de <i>Lactobacillus crispatus</i> obtenu selon exemple 1c)	1,00
----	--	------

Exemple 7.b : Exemple de composition cosmétique comprenant la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.e

Les proportions sont exprimées en % et les noms en majuscules correspondent aux noms INCI des ingrédients.

Phase A

20	GLYCERIN	5,00
	BUTYLENE GLYCOL	10,00
	XANTHAN GUM	2,00

Phase B

25	Eau	58.95
	Sodium benzoate	0,25
	GLYCERINE, EAU, SODIUM LEVULINATE, SODIUM ANISATE	1,00

Phase C

30	POLYGLYCERYL-2 DIPOLYHYDROXYSTEARATE	1,00
	DIPROPYLHEPTYL CARBONATE	3,00
	DICAPRYLYL CARBONATE	3,00
	CAPRYLYL CAPRYLATE/CAPRATE	10,00

LAURETH-7 CITRATE 0,50

Phase D

Acide citrique 0,30

5

Phase E

Extrait de *Lactobacillus crispatus* obtenu selon exemple 1e 1,00

Eau 4,00

10 On procède selon les méthodes connues de l'homme du métier pour mélanger ensemble les différentes phases A, B, C à température ambiante, en ajoutant B en A en remuant, puis C dans AB. On ajuste le pH à 4,9 avec D. Puis on ajoute la phase E. Enfin, on homogénéise par Ultra Turrax pour préparer une composition selon la présente invention.

15

Exemple 7.c : Exemple de composition cosmétique comprenant la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1.f

La souche de *Lactobacillus crispatus* obtenue selon l'exemple 1.f est ajoutée juste avant l'application sur la peau dans une formulation telle que défini ci-dessous selon

20 la Table 8, à une concentration finale de 0,05% (p/p) par rapport au poids total de la formulation.

Dénomination	Quantité (% en poids total)
Phase A	
Ceterayl Alcohol, Lecithin, Sodium Cetearyl Sulfate, olus oil	3.00
Hydrogenated Vegetable Glycerides	2.50
Caprylyl Caprylate/Caprates	6.50
Dicaprylyl Carbonate	4.00
Phase B	
Water	66.35
Butylene Glycol	10.00
Sodium Benzoate	0.25
Phase C	
Glycerin	5.00
Xanthan Gum	1.00
Phase D	

Glycerin, Aqua, Sodium Levulinate, Sodium Anisate	1.00
Citric Acid	0.40

Exemple 8 : Exemple d'une composition dermatologique

Exemple 8a) : Pommade contenant la souche entière viable de *L. crispatus* selon l'invention.

- 5 La composition ci-après est préparée selon des méthodes connues de l'homme du métier, en particulier s'agissant des différentes phases à mélanger entre elles. Les quantités indiquées sont en pourcentage en poids par rapport au poids total de la composition.

10	Ingrédient *	3,00
	Excipient :	
	Polyéthylène basse densité	5,50
	Paraffine liquide	Qsp 100

- * L'ingrédient est préparé selon l'exemple 1a) précédent. L'ingrédient selon l'invention est stérilisé puis séché avant d'être incorporé dans la composition sous forme de pommade.

Exemple 8b) : Crème contenant la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'exemple 1c).

Phase	Dénomination	Quantité (% en poids total)
A	Eau	79,60
A	PROPYLENE GLYCOL (AND) PHENOXYETHANOL (AND) CHLORPHENESIN (AND) METHYLPARABEN	2,50
A	Glycérine	2
A	SODIUM STEAROYL GLUTAMATE	0,5
B	DICAPRYLYL CARBONATE	3
B	COCO-CAPRYLATE / CAPRATE	3
B	CAPRYLIC / CAPRIC TRIGLYCERIDE	3

B	SUCROSE POLYSTEARATE (AND) CETYL PALMITATE	3
B	PENTAERYTHRITYL DISTEARATE	1
B	SODIUM POLYACRYLATE	0,7
C	Eau	0,9
C	Extrait de <i>Lactobacillus crispatus</i> selon l'exemple 1c)	0,1
D	Acide citrique et eau	0,7

Les phases A et B sont chauffées à 75° puis mélangés sous agitation. Une fois que le mélange est revenu à température ambiante, les phases C et D sont ajoutées sous agitation.

Revendications

1. Utilisation cosmétique et / ou nutraceutique d'une souche de *Lactobacillus crispatus*, préférentiellement la souche de *Lactobacillus crispatus* étant l'espèce
5 déposée sous la désignation CNCM I-5579, pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines.
2. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle les molécules de la matrice
10 extracellulaire de la peau saine et / ou des muqueuses saines sont choisies parmi les fibres de collagène de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou les fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines.
3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, pour maintenir et / ou augmenter
15 l'expression des collagènes de type I, III, IV, V, VI, VII, XII, XIII, XIV, XVI, XVII, XXIV et / ou XXIX, préférentiellement de type I, III, IV, V et / ou XIV, préférentiellement les fibres de collagène de type I, IV et / ou V, encore préférentiellement les fibres de collagène de type I.
4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour maintenir et /
20 ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité de la peau saine et / ou des muqueuses saines, encore préférentiellement la fermeté et / ou l'élasticité de la peau saine et / ou des
25 muqueuses saines.
5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans
laquelle la souche est utilisée sous forme entière, notamment viable et / ou
inactivée, notamment morte, et / ou sous forme de lysat, et / ou sous forme de
30 l'une ou plusieurs de ses fractions, et / ou sous forme d'un ou plusieurs de ses métabolites, préférentiellement de son sécrétome.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans
laquelle la souche est utilisée sous forme entière viable et / ou sous forme de

lysats et / ou dans laquelle la souche utilisée est la souche de *Lactobacillus crispatus* déposée sous la désignation CNCM I-5579.

- 5 7. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, dans laquelle la souche de *Lactobacillus crispatus* est associée à son milieu de fermentation et / ou de culture.
- 10 8. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, dans laquelle la souche de *Lactobacillus crispatus* est appliquée par voie topique sur la peau saine et / ou les muqueuses saines.
- 15 9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, telle que la souche de *Lactobacillus crispatus* est présente dans la composition cosmétique à une concentration de 1x10⁻⁴% à 10% en poids, préférentiellement entre 1x10⁻⁴% et 5% en poids, encore avantageusement entre 1x10⁻³% et 0,5% en poids par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.
- 20 10. Procédé de soin cosmétique caractérisé en ce qu'il comprend l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et / ou de muqueuse saine d'une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'une des revendications 5, 6 ou 7, ou d'une composition cosmétique selon la revendication 9, pour maintenir et / ou augmenter l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la
25 peau saine et / ou des muqueuses saines, préférentiellement pour maintenir et / ou augmenter l'expression des collagènes de la peau saine et / ou des muqueuses saines et / ou des fibres élastiques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, et / ou pour maintenir et / ou augmenter les propriétés biomécaniques de la peau saine et / ou des muqueuses saines, notamment la fermeté et / ou l'élasticité et / ou la densité, préférentiellement la fermeté.
- 30 11. Procédé de soin cosmétique selon la revendication 10, dans laquelle l'application par voie topique d'une souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'une des revendications 5, 6 ou 7, ou d'une composition cosmétique selon la revendication 9, est effectuée sur tout ou partie du corps et / ou du visage et /

ou du cuir chevelu, préférentiellement les jambes, les cuisses, les bras, le ventre, le décolleté, le cou, les aisselles, les lèvres, encore préférentiellement tout ou partie du visage, et préférentiellement les joues, le front, le menton, les lèvres, le contour des yeux.

5

12. Procédé de soin cosmétique selon l'une quelconque des revendications 10 à 11, dans lequel la composition cosmétique comprend la souche de *Lactobacillus crispatus* selon l'une des revendications 5, 6 ou 7 à une concentration de 1x10⁻⁴% à 10% en poids, préférentiellement entre 1x10⁻⁴% et 5% en poids, encore avantageusement entre 1x10⁻³% et 0,5% en poids par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

10

13. Souche de *Lactobacillus crispatus*, ou une composition dermatologique la comprenant, pour son utilisation, avantageusement par voie topique, pour le traitement et / ou la prévention des pathologies de la peau et / ou des muqueuses impliquant une diminution de la quantité et/ou de l'expression des molécules de la matrice extracellulaire de la peau et / ou des muqueuses, et / ou une diminution de la quantité et/ou de l'expression des collagènes et / ou des fibres élastiques de la peau et / ou des muqueuses, et / ou une diminution des propriétés biomécaniques de la peau et / ou des muqueuses, notamment une diminution de la fermeté de la peau et / ou des muqueuses et / ou une diminution d'élasticité de la peau et / ou des muqueuses et/ou une diminution de la densité de la peau et/ou des muqueuses,

la souche étant utilisée sous forme entière, notamment viable et / ou inactivée, notamment morte, et / ou sous forme de lysat, et / ou sous forme de l'une ou plusieurs de ses fractions, et / ou sous forme d'un ou plusieurs de ses métabolites, préférentiellement de son sécrétome, et/ou la souche étant associée à son milieu de fermentation et / ou de culture.

15

20

25

30

14. Souche de *Lactobacillus crispatus* pour son utilisation selon la revendication 13, caractérisée en ce qu'elle se trouve sous la forme d'une composition dermatologique comprenant au moins un excipient dermatologiquement acceptable.

- 5 15. Souche de *Lactobacillus crispatus* pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 13 à 14, caractérisée en ce qu'elle est présente dans la composition pharmaceutique, préférentiellement dermatologique, à une concentration de 1x10⁻⁴% à 10% en poids, préférentiellement entre 1x10⁻⁴% et 5% en poids, encore avantageusement entre 1x10⁻³% et 0,5% en poids par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.
- 10 16. Souche de *Lactobacillus crispatus* pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 13 à 15, caractérisée en ce que la souche est selon l'une des revendications 5, 6 ou 7.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR2021/052325

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>A61Q 19/00</i> (2006.01)i; <i>A61Q 19/08</i> (2006.01)i; <i>A61K 8/99</i> (2017.01)i; <i>A61P 17/00</i> (2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61Q; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 3040413 A1 (SUZHOU OSEL BIO PHARM CO LTD [CN]) 06 July 2016 (2016-07-06) the whole document	1-16
A	EP 1778258 A2 (PROGE FARM SRL [IT]) 02 May 2007 (2007-05-02) the whole document	1-16
A	EP 0941056 B1 (VSL PHARMA LTD [IE]) 12 June 2002 (2002-06-12) the whole document	1-16
A	US 2015093462 A1 (YAROSH DANIEL B [US] ET AL) 02 April 2015 (2015-04-02) the whole document paragraph [0042]	1-16
A	WO 2009031106 A2 (OREAL [FR]; NESTEC SA [CH] ET AL.) 12 March 2009 (2009-03-12) cited in the application the whole document	1-16
A	WO 2019111189 A1 (SOFAR SPA [IT]) 13 June 2019 (2019-06-13) cited in the application the whole document	1-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 07 April 2022		Date of mailing of the international search report 10 May 2022
Name and mailing address of the ISA/EP European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer Diebold, Alain Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/FR2021/052325

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
EP	3040413	A1	06 July 2016	EP	3040413	A1	06 July 2016
				ES	2670536	T3	30 May 2018
				JP	6890419	B2	18 June 2021
				JP	2017501741	A	19 January 2017
				KR	20160067893	A	14 June 2016
				MY	172685	A	10 December 2019
				SG	11201603346V	A	30 May 2016
				TW	201531560	A	16 August 2015
				US	2017020934	A1	26 January 2017
				WO	2015067141	A1	14 May 2015
EP	1778258	A2	02 May 2007	AT	419859	T	15 January 2009
				EP	1778258	A2	02 May 2007
				ES	2320685	T3	27 May 2009
				PT	1778258	E	31 March 2009
				WO	2006013441	A2	09 February 2006
EP	0941056	B1	12 June 2002	AR	009626	A1	26 April 2000
				AT	218850	T	15 June 2002
				AU	732203	B2	12 April 2001
				BR	9713287	A	26 October 1999
				CA	2271762	A1	28 May 1998
				CN	1240345	A	05 January 2000
				CN	1840183	A	04 October 2006
				DE	69713379	T2	13 February 2003
				DK	0941056	T3	15 July 2002
				EA	199900486	A1	29 December 1999
				EP	0941056	A1	15 September 1999
				ES	2176795	T3	01 December 2002
				HK	1024636	A1	20 October 2000
				IL	130037	A	01 June 2004
				IT	RM960799	A1	22 May 1998
				JP	4965008	B2	04 July 2012
				JP	2001505201	A	17 April 2001
				JP	2009138006	A	25 June 2009
				KR	20000057210	A	15 September 2000
				MX	216017	B	26 August 2003
				PT	941056	E	29 November 2002
				US	6258355	B1	10 July 2001
				US	2003077269	A1	24 April 2003
				US	2003086917	A1	08 May 2003
				US	2005265986	A1	01 December 2005
				WO	9822082	A1	28 May 1998
US	2015093462	A1	02 April 2015	AU	2014324694	A1	14 April 2016
				CA	2923236	A1	02 April 2015
				EP	3052076	A1	10 August 2016
				ES	2864716	T3	14 October 2021
				JP	6446037	B2	26 December 2018
				JP	2016531875	A	13 October 2016
				KR	20160046896	A	29 April 2016
				US	2015093462	A1	02 April 2015
				US	2020113815	A1	16 April 2020

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/FR2021/052325

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				WO	2015048511	A1	02 April 2015
WO	2009031106	A2	12 March 2009	BR	PI0816214	A2	07 October 2014
				CA	2697735	A1	12 March 2009
				CN	101815502	A	25 August 2010
				EP	2082731	A1	29 July 2009
				ES	2461791	T3	21 May 2014
				US	2009068161	A1	12 March 2009
				WO	2009031106	A2	12 March 2009
WO	2019111189	A1	13 June 2019	AU	2018378419	A1	09 July 2020
				BR	112020010930	A2	17 November 2020
				CA	3084735	A1	13 June 2019
				CN	111511379	A	07 August 2020
				EA	202091389	A1	11 September 2020
				EP	3720457	A1	14 October 2020
				JP	2021505689	A	18 February 2021
				KR	20200096807	A	13 August 2020
				US	2021236566	A1	05 August 2021
				WO	2019111189	A1	13 June 2019
				ZA	202003788	B	30 June 2021

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2021/052325

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61Q19/00 A61Q19/08 A61K8/99 A61P17/00 ADD.				
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB				
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61Q A61K A61P				
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche				
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data				
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS				
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées		
A	EP 3 040 413 A1 (SUZHOU OSEL BIO PHARM CO LTD [CN]) 6 juillet 2016 (2016-07-06) le document en entier -----	1-16		
A	EP 1 778 258 A2 (PROGE FARM SRL [IT]) 2 mai 2007 (2007-05-02) le document en entier -----	1-16		
A	EP 0 941 056 B1 (VSL PHARMA LTD [IE]) 12 juin 2002 (2002-06-12) le document en entier -----	1-16		
A	US 2015/093462 A1 (YAROSH DANIEL B [US] ET AL) 2 avril 2015 (2015-04-02) le document en entier alinéa [0042] -----	1-16		
	----- -/--			
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;"><input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents</td> <td style="width: 50%; border: none;"><input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe</td> </tr> </table>			<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe			
* Catégories spéciales de documents cités:				
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent	"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention			
"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date	"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément			
"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)	"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier			
"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens	"&" document qui fait partie de la même famille de brevets			
"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée				
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale			
7 avril 2022	10/05/2022			
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé Diebold, Alain			

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>WO 2009/031106 A2 (OREAL [FR]; NESTEC SA [CH] ET AL.) 12 mars 2009 (2009-03-12) cité dans la demande le document en entier -----</p>	1-16
A	<p>WO 2019/111189 A1 (SOFAR SPA [IT]) 13 juin 2019 (2019-06-13) cité dans la demande le document en entier -----</p>	1-16

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2021/052325

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 3040413	A1	06-07-2016	EP 3040413 A1	06-07-2016
			ES 2670536 T3	30-05-2018
			JP 6890419 B2	18-06-2021
			JP 2017501741 A	19-01-2017
			KR 20160067893 A	14-06-2016
			MY 172685 A	10-12-2019
			SG 11201603346V A	30-05-2016
			TW 201531560 A	16-08-2015
			US 2017020934 A1	26-01-2017
			WO 2015067141 A1	14-05-2015
<hr/>				
EP 1778258	A2	02-05-2007	AT 419859 T	15-01-2009
			EP 1778258 A2	02-05-2007
			ES 2320685 T3	27-05-2009
			PT 1778258 E	31-03-2009
			WO 2006013441 A2	09-02-2006
<hr/>				
EP 0941056	B1	12-06-2002	AR 009626 A1	26-04-2000
			AT 218850 T	15-06-2002
			AU 732203 B2	12-04-2001
			BR 9713287 A	26-10-1999
			CA 2271762 A1	28-05-1998
			CN 1240345 A	05-01-2000
			CN 1840183 A	04-10-2006
			DE 69713379 T2	13-02-2003
			DK 0941056 T3	15-07-2002
			EA 199900486 A1	29-12-1999
			EP 0941056 A1	15-09-1999
			ES 2176795 T3	01-12-2002
			HK 1024636 A1	20-10-2000
			IL 130037 A	01-06-2004
			IT RM960799 A1	22-05-1998
			JP 4965008 B2	04-07-2012
			JP 2001505201 A	17-04-2001
			JP 2009138006 A	25-06-2009
			KR 20000057210 A	15-09-2000
			MX 216017 B	26-08-2003
			PT 941056 E	29-11-2002
			US 6258355 B1	10-07-2001
			US 2003077269 A1	24-04-2003
			US 2003086917 A1	08-05-2003
			US 2005265986 A1	01-12-2005
			WO 9822082 A1	28-05-1998
<hr/>				
US 2015093462	A1	02-04-2015	AU 2014324694 A1	14-04-2016
			CA 2923236 A1	02-04-2015
			EP 3052076 A1	10-08-2016
			ES 2864716 T3	14-10-2021
			JP 6446037 B2	26-12-2018
			JP 2016531875 A	13-10-2016
			KR 20160046896 A	29-04-2016
			US 2015093462 A1	02-04-2015
			US 2020113815 A1	16-04-2020
			WO 2015048511 A1	02-04-2015
<hr/>				
WO 2009031106	A2	12-03-2009	BR PI0816214 A2	07-10-2014
			CA 2697735 A1	12-03-2009
			CN 101815502 A	25-08-2010

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2021/052325

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
		EP 2082731 A1	29-07-2009
		ES 2461791 T3	21-05-2014
		US 2009068161 A1	12-03-2009
		WO 2009031106 A2	12-03-2009

WO 2019111189 A1	13-06-2019	AU 2018378419 A1	09-07-2020
		BR 112020010930 A2	17-11-2020
		CA 3084735 A1	13-06-2019
		CN 111511379 A	07-08-2020
		EA 202091389 A1	11-09-2020
		EP 3720457 A1	14-10-2020
		JP 2021505689 A	18-02-2021
		KR 20200096807 A	13-08-2020
		US 2021236566 A1	05-08-2021
		WO 2019111189 A1	13-06-2019
		ZA 202003788 B	30-06-2021
