



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0802594-0 B1

(22) Data do Depósito: 17/07/2008

(45) Data de Concessão: 25/04/2017



(54) Título: USOS DE PELO MENOS UM EXTRATO DE BACTÉRIA VITREOSCILLA FILIFORMIS, COMPOSIÇÃO QUE COMPREENDE PELO MENOS UM EXTRATO DE BACTÉRIA VITREOSCILLA FILIFORMIS, COMPOSIÇÃO DE MAQUILAGEM E PROCESSO COSMÉTICO PARA PREVENIR E/OU ATENUAR AS VERMELHIDÕES E/OU OS SINAIS DA MICROCIRCULAÇÃO CUTÂNEA

(51) Int.Cl.: A61K 8/99; A61Q 1/00; A61Q 5/00

(73) Titular(es): L'OREAL

(72) Inventor(es): AUDREY GUENICHE; LIONEL BRETON

“USOS DE PELO MENOS UM EXTRATO DE BACTÉRIA *VITREOSCILLA FILIFORMIS*, COMPOSIÇÃO QUE COMPREENDE PELO MENOS UM EXTRATO DE BACTÉRIA *VITREOSCILLA FILIFORMIS*, COMPOSIÇÃO DE MAQUILAGEM E PROCESSO COSMÉTICO PARA PREVENIR E/OU ATENUAR AS VERMELHIDÕES E/OU OS SINAIS DA MICROCIRCULAÇÃO CUTÂNEA”

CAMPO DA INVENÇÃO

[01] A presente invenção refere-se ao uso de extratos bacterianos cultivados em água termal como agentes que reduzem as vermelhidões da pele tais como as que são ligadas aos estresses do meio ambiente, ou ainda as vermelhidões associadas a um distúrbio cutâneo, por exemplo, os que ocorrem durante a rosácea.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[02] Preferencialmente, o extrato bacteriano é obtido a partir da bactéria *Vitreoscilla filiformis*, em particular, a linhagem ATCC 15551, cultivadas em um meio enriquecido com água de La Roche Posay.

[03] A rosácea é uma patologia cutânea que se manifesta em 4 subtipos: eritro-teliengectásica, papulo-pustulosa, hipertrófica e ocular. Nas formas vasculares, os capilares ficam dilatados, e a continuidade do endotélio é às vezes interrompida. Isso provoca um edema superficial associado a uma inflamação perivascular e perifolicular de intensidade média. De modo geral, os elementos morfológicos sugerem que o *primum movens* da doença é uma alteração vascular seguida de um aumento do ácaro *Demodex*. As estimativas francesas indicam que a ocorrência dessa afecção na população é de 3% dos quais 2/3 são mulheres.

[04] Certos neuropeptídeos como a substância P ou o VIP contribuem para o fenômeno de inflamação local que causa vermelhidões da pele e nos sujeitos acometidos de rosácea. Assim, é útil dispor de um produto que aja sobre os fenômenos cutâneos ligados à liberação da substância P, que

permitam assim limitar a ação amplificadora da substância P sobre o “processo” inflamatório e reduzir os eritemas da pele observados em particular nas pessoas acometidas de rosácea, de dermite atópica ou ainda de dermite seborréica.

DESCRIÇÃO RESUMIDA DA INVENÇÃO

[05]A Depositante demonstra a capacidade de um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa de diminuir as vermelhidões cutâneas.

[06]A Depositante mostra mais especificamente que o tratamento de um explante de pele humana em sobrevida com um extrato da bactéria *Vitreoscilla filiformis* cultivada em um meio enriquecido com água termal de La Roche Posay, protege o tecido de uma vasodilatação induzida pela substância P.

[07]A comparação desse efeito com o de um extrato da mesma bactéria cultivada em um meio de cultura comparável obtido com água destilada mostra unicamente que o extrato bacteriano utilizado de acordo com a presente invenção possui um efeito superior.

[08]Assim, a presente invenção refere-se ao uso de pelo menos um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa como agente que previne e/ou limita e/ou corrige o aparecimento das vermelhidões cutâneas.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

EXTRATO BACTERIANO

[09]O extrato bacteriano utilizado de acordo com a presente invenção é preparado por um processo que compreende a cultura de pelo

menos uma bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa.

[010] As bactérias utilizadas são bactérias filamentosas não fotossintéticas que compreendem em particular as bactérias que pertencem à ordem das Beggiatoales, e mais particularmente as bactérias que pertencem aos gêneros Beggiatoa, Vitreoscilla, Flexithrix ou Leucothrix.

[011] Para a realização da presente invenção, preferem-se as bactérias que pertencem ao gênero Vitreoscilla, em particular para as bactérias da espécie *Vitreoscilla filiformis*.

[012] Essas bactérias, entre as quais várias já foram descritas, possuem geralmente um habitat aquático e podem ser encontradas em particular em águas marinhas ou em águas termais. Entre as bactérias utilizáveis, pode-se citar, por exemplo:

Vitreoscilla filiformis (ATCC 15551)

Vitreoscilla beggiatoïdes (ATCC 43181)

Beggiatoa alba (ATCC 33555)

Flexithrix dorotheae (ATCC 23163)

Leucothrix mucor (ATCC 25107)

Sphaerotilus natans (ATCC 13338)

[013] De preferência, a bactéria é a depositada na ATCC sob o nº 15551.

[014] Por água termal, entende-se uma água quente ou fria que é utilizada por suas virtudes terapêuticas ou para um uso balneário. Pode-se utilizar uma água termal ou uma água mineral. Em geral, uma água mineral é própria para o consumo, o que não é sempre o caso de uma água termal. Cada uma dessas águas contém, entre outras coisas, minerais solubilizados e oligoelementos. Essas águas são conhecidas por seu uso para fins de

tratamento específico de acordo com os oligoelementos e os minerais particulares que contêm.

[015] De preferência, utiliza-se uma água termal ou mineral que apresenta uma mineralização superior ou igual a 400 mg/l.

[016] Entende-se, na presente invenção, por “mineralização” a soma das concentrações de ânions e de cátions, presentes na água termal ou mineral. Nas águas minerais ou termais úteis na presente invenção, a mineralização está geralmente compreendida entre 400 e 900 mg/l.

[017] A água termal e/ou mineral utilizada na respectivamente pode ter uma mineralização de pelo menos 700 mg/l e, em particular, uma concentração total de carbonatos e de bicarbonatos de pelo menos 150 mg/l e mais preferencialmente de pelo menos 360 mg/l e em particular de carbonato e bicarbonato de sódio superior a 2 mg/l. A concentração de óxido de silício na água utilizada na composição de acordo com a presente invenção pode ser de preferência de pelo menos 6 mg/l e mais preferencialmente de pelo menos 9 mg/l.

[018] A água termal ou a água mineral utilizada na presente invenção pode ser escolhida entre a água de Vittel, as águas da bacia de Vichy, a água de Uriage, a água de La Roche Posay, a água de la Bourboule, a água de Enghien-les-bains, a água de Saint-Gervais-les-bains, a água de Nérís-les-bains, a água de Allevard-les-bains, a água de Digne, a água des Maizières, a água de Neyrac-les-bains, a água de Lons le Saunier, as águas « as águas Bonnes », a água de Rochefort, a água de Saint Christau, a água des Fumades e a água de Tercis-les-bains.

[019] Entre essas águas, as que apresentam uma concentração total de carbonatos ou bicarbonatos superior a 360 mg/l são a água de Vittel, a água de la Bourboule, a água des Fumades, a água de Enghien-les-bains, a água de La Roche-Posay, a água da bacia de Vichy, a água de Uriage.

[020] Entre essas águas, as que apresentam uma concentração de carbonatos ou bicarbonatos compreendida entre 150 mg/l e 360 mg/l são a água de Digne, a água de Maizières, a água de Rochefort, a água de Saint-Gervais-les-bains.

[021] Entre essas águas, as que contêm pelo menos 2 mg/l de carbonato ou bicarbonato de sódio são a água de la Roche Posay, a água de Vittel, as águas da bacia de Vichy, a água de Uriage.

[022] As águas que contêm pelo menos 9 mg/l de óxido de silício são a água de la Roche Posay, a água de Vittel, as águas da bacia de Vichy, a água de Uriage.

[023] As águas termais ou minerais que são mais particularmente apropriadas à realização da presente invenção possuem uma concentração de íons de cálcio superior ou igual a 100 mg/l, e mesmo a 140 mg/l.

[024] De acordo com um modo de realização vantajoso, a água termal ou mineral possui uma concentração de íons hidrogenocarbonatos superior ou igual a 300 mg/l. Os hidrogenocarbonatos, também chamados bicarbonatos, estão em particular presentes a uma concentração superior ou igual a 350 mg/l.

[025] De acordo com um modo de realização vantajoso, as bactérias são cultivadas em um meio que compreende pelo menos uma água termal. Esta pode ser em particular escolhido entre a água de Vittel, as águas da bacia de Vichy, a água de Uriage, a água de la Roche-Posay, a água de la Bourboule, a água des Fumades, a água de Enghien-les-bains, as águas « Les Eaux Bonnes ».

[026] As águas que permitem obter um resultado particularmente vantajoso de acordo com a presente invenção são escolhidas em particular a água de la Roche Posay e a água de Vittel, ou uma água de composição similar.

[027] A água de La Roche Posay é extraída da fonte do mesmo nome. Trata-se de uma água bicarbonatada cálcica, silicatada e seleniada. Ela compreende geralmente 387 mg/l de íons bicarbonatos, aproximadamente 140 mg/l de íons cálcio e pelo menos 4 mg/l de sulfatos.

[028] A água de Vittel é rica em cálcio e em sais minerais (841 mg/l) e contém particularmente 202 mg/l de cálcio, 402 mg/l de bicarbonatos e 336 mg/l de sulfatos.

[029] Pode-se em particular efetuar uma cultura no seguinte meio:

Composição	Concentração
Extrato autolítico de levedura	0,5 a 5 g/l
Peptona vegetal	0,5 a 5 g/l
Glicose anidra	0,5 a 7 g/l
Microelementos de Heller	0,5 a 5 ml/l
CaCl ₂ , 10 H ₂ O	0,010 a 0,200 g/l

[030] Completa-se a 1000 ml com água mineral e/ou termal eventualmente é completada com água destilada ou em osmose.

[031] Entre as peptonas utilizáveis, pode-se citar, por exemplo, a peptona papaínica de soja.

[032] Esse meio se distingue dos meios geralmente utilizados pela ausência de catalase e de sulfeto.

[033] Os microelementos de Heller foram descritos por Heller, Ann Sci. Nat. Biol. Veg. 14: 1-223 (1953). Trata-se de misturas de diversos elementos minerais que foram recomendados por Heller, não para a cultura das bactérias, mas para a nutrição dos tecidos vegetais cultivados *in vitro*.

[034] A cultura pode ser efetuada à temperatura apropriada que convém para a espécie bacteriana cultivada. Geralmente essa temperatura

está compreendida entre 18 e 40 °C de acordo com as linhagens. O pH do meio de cultura está de preferência compreendido entre 5,5 e 8.

[035] A composição dos microelementos Heller, para 1l de água, é a seguinte:

ZnSO ₄ ,7 H ₂ O	1 g
MnSO ₄ ,H ₂ O	0,076 g
CuSO ₄ ,5H ₂ O	0,003 g
KI	0,010 g
H ₃ BO ₃	1 g
AlCl ₃ ,6H ₂ O.....	0,050 g
NiCl ₂ ,6H ₂ O.....	0,030 g

[036] As referidas termais ou minerais podem representar a totalidade ou parte da fase aquosa do meio de cultura. Elas podem assim estar em mistura em qualquer proporção com a água, em particular destilada ou em osmose, presente no meio de cultura. A mistura (i) de água termal e (ii) de água em osmose poderá estar em uma razão compreendida entre 0,1% e 100%, sobretudo de 0,1 a 50, em particular de 0,1 a 25.

[037] Após mistura de todos os elementos do meio, procede-se vantajosamente a uma esterilização do meio de cultura que contém a água termal e/ou mineral; essa etapa é efetuada por métodos conhecidos do técnico no assunto tais como a esterilização por filtração ou pelo calor.

[038] O meio de cultura é inoculado a seguir com bactérias.

[039] Os meios que são mais apropriados à cultura das bactérias são tais que a água termal ou mineral representa de preferência pelo menos 0,1% da quantidade de água introduzida para a preparação do meio, em particular de 0,1 a 99,9%. São obtidos bons resultados com concentrações de água termal de aproximadamente 1,33% em relação à água em osmose e/ou

destilada, por exemplo de 0,5 a 20%, e mesmo de 0,5 a 50%, mas essas concentrações podem ser aumentadas sem inconveniente.

[040] De modo conhecido, o processo de preparação do extrato bacteriano compreende pelo menos uma etapa na qual se recuperam as bactérias no fim da cultura, em particular separando-as do meio de cultura.

[041] Após a cultura das bactérias, pode-se isolar a biomassa por diversos métodos conhecidos, por exemplo, por filtração, por coagulação com um álcool (etanol, isopropanol, isobutanol), por secagem em cilindro com pré-camada (amido, diatomáceas...) raspada, ou por liofilização. Uma concentração prévia, por exemplo, a 80°C, sob pressão reduzida melhora essa separação.

[042] A biomassa pode ser utilizada viva ou então ser tratada por diferentes processos. Pode-se proceder a uma operação de ruptura dos envelopes, por exemplo, pela ação dos ultra-sons. Pode-se ainda preparar extratos por meio de um álcool tal como o etanol ou o propanol.

[043] Pode-se ainda preparar extratos lipopolissacarídicos pelos métodos conhecidos, ver, por exemplo, Noris e Ribbons, *Methods in Microbiology*, Vol. 5B, Academic Press (1971). O método geralmente utilizado é o método bem conhecido chamado de Westphal (ou um método afim), que consiste em fazer a extração com misturas fenol-água a 65°C. O extrato é submetido em seguida a uma diálise para eliminar o fenol.

[044] O extrato bacteriano útil de acordo com a presente invenção pode ainda resultar da realização do seguinte processo: (i) cultiva-se pelo menos uma bactéria pertencente à ordem dos Beggiatoales em um meio que compreende uma ose como fonte principal de carbono e pelo menos uma água mineral ou termal, e (ii) após fermentação, as bactérias são separadas do meio de cultura, para recuperar a referida massa das bactérias.

[045] As bactérias recuperadas no fim da etapa de fermentação podem em particular ser submetidas a um tratamento de estabilização e/ou de

extração. É o extrato de bactérias filamentosas, assim obtido, que será geralmente utilizado na ou para a preparação de composições cosméticas ou dermatológicas. De modo conhecido em si, o extrato poderá ser esterilizado em particular por filtração ou por autoclavagem.

[046] Por extrato de bactérias filamentosas não fotossintéticas, entende-se o sobrenadante de cultura das referidas bactérias, a biomassa obtida após cultura das referidas bactérias ou ainda os extratos de biomassa obtidos por tratamento dessa biomassa.

[047] Para preparar o extrato de acordo com a presente invenção, pode-se cultivar as referidas bactérias pelo processo de acordo com a presente invenção, e separá-los da biomassa obtida, por exemplo, por filtração, centrifugação, coagulação e/ou liofilização.

[048] Assim, após cultura, as bactérias são concentradas por centrifugação. A biomassa obtida é autoclavada. Essa biomassa pode ser liofilizada para constituir o que se chama de extrato liofilizado. Qualquer método de liofilização conhecido do técnico no assunto é utilizável para preparar esse extrato.

[049] A fração sobrenadante dessa biomassa é também filtrada em um recipiente estéril para eliminar as partículas em suspensão. Essa fração sobrenadante pode igualmente ser transvasada de modo estéril em um recipiente estéril. De acordo com um modo de realização particular da presente invenção, a fração sobrenadante assim obtida é utilizada como ativo cosmético ou dermatológico.

[050] O extrato bacteriano útil de acordo com a presente invenção pode ser formulado em um suporte apropriado à razão de pelo menos 20% em peso em relação ao peso total da composição, em particular à razão de 0,001 a 20% em peso em relação ao peso total da composição e mais particularmente à razão de 0,01 a 10% em peso em relação ao peso total da composição.

[051] Para certas aplicações ou formulações específicas, pode ser vantajoso utilizar concentrações ponderais elevadas de extrato bacteriano, por exemplo, compreendidas entre 15 a 20%.

[052] O extrato bacteriano de acordo com a presente invenção pode ser utilizado em uma forma pó liofilizado, por exemplo, para atingir porcentagens da ordem de 0,001% a 20%, em peso de extrato seco de bactérias filamentosas não frutificantes fotossintéticas em relação ao peso da composição. Em formas de aplicação particulares de tipo balneoterapia, pode-se também considerar aplicações em proporções superiores.

[053] O extrato bacteriano cultivado em um meio enriquecido com água termal pode ainda ser utilizado em forma de frações de componentes celulares ou em forma de metabólitos. O(s) microorganismo(s) metabólito(s) ou fração(ões) pode(m) também ser introduzido(s) na forma de um pó liofilizado, de um sobrenadante de cultura e/ou se for o caso, em uma forma concentrada.

[054] Para certas aplicações, a biomassa viva pode ser utilizada tal qual, por exemplo, em forma de máscaras ou de cataplasma para produzir um efeito imediato.

[055] No sentido da presente invenção, o termo "metabólito" designa qualquer substância proveniente do metabolismo dos microorganismos considerados de acordo com a presente invenção e dotada de eficácia para o tratamento das vermelhidões da pele.

[056] De modo inesperado, a Depositante constatou que os extratos bacterianos cultivados em água termal podiam se mostrar eficazes para o tratamento das vermelhidões da pele.

[057] De fato, a Depositante pôde mostrar que o extrato da bactéria *Vitreoscilla filiformis* cultivada na água termal de La Roche Posay possui uma eficácia no tratamento das vermelhidões cutâneas que é superior

em relação ao extrato da mesma bactéria cultivada em meio clássico, ou seja, sem água mineral ou termal.

[058] A diferença essencial entre esses dois extratos reside nos protocolos de preparação do meio de cultura em que há substituição da água em osmose pela água de La Roche Posay. Sem que a Depositante fique vinculada com qualquer hipótese, isso conduziria em particular a uma modificação do metabolismo das bactérias causada por um enriquecimento do meio de cultura com elementos minerais, particularmente em selênio, estrôncio e zinco.

[059] É também interessante notar que a introdução dessa biomassa em um suporte de formulação não provoca um risco de superexposição a esses elementos, Se e Zn são elementos essenciais ao organismo e o Sr está amplamente difundido na alimentação.

[060] A tabela a seguir fornece as concentrações desses elementos químicos no extrato bacteriano da presente invenção preparado de acordo com o protocolo do exemplo 1 (extrato liofilizado).

Se (mg/kg)	6
Sr (mg/kg)	10
Zn (mg/kg)	216

[061] Assim, a aplicação desse extrato enriquecido provoca exposições tópicas de sais minerais por dia da ordem de:

Se (µg/J)	0,008
Sr (µg/J)	0,0032
Zn (µg/J)	0,094

[062] Deve-se lembrar aqui que o uso dos íons para melhorar o estado cutâneo é muito antigo. Assim, as curas termais para fins de tratamento dermatológico nas margens do Mar Morto – extensão de água mais salina do mundo – são conhecidas desde a Antiguidade (Abels DJ e coll, Clinics in Dermatol 14: 653-658,1996). Esses banhos exercem uma atividade

antipruriginosa e não é raro que as pessoas tratadas experimentem a sensação de terem uma pele mais lisa e macia (Even-Pazz Z, Isr J Med Sci 32:11-15, 1996). Atualmente, o interesse da aplicação tópica de cátions está sendo tão estudado no campo da sensibilidade quanto no do ressecamento da pele. Entre os cátions divalentes, é o efeito calmante do estrôncio que foi mais documentado (Hahn GS, In biochemical modulation of skin reactions. Kydonieus AF, Will JJ (eds), CRC, Boca Raton, Florida, US, 261-272, 2000).

[063] Mais especificamente, a presente invenção refere-se ao uso cosmético de pelo menos um extrato de bactéria não fotossintética e não frutificante cultivada em uma água mineral e/ou termal não sulfurosa como agente para tratar as vermelhidões cutâneas.

[064] Por vermelhidão, entende-se uma coloração que vai do rosado ao vermelho, e mesmo ao vermelho escuro, da totalidade ou de parte da pele do corpo, do couro cabeludo, das mucosas ou semimucosas. Essa manifestação também chamada de eritema, que pode ser um sinal de boa aparência (bochechas rosadas) é, na maior parte das vezes, indesejável, em particular quando está associada com outros sintomas de um distúrbio cutâneo tal como a rosácea, a dermite atópica ou ainda a dermite seborréica.

[065] Por tratar, salvo indicação contrária, entende-se qualquer ação destinada a melhorar o conforto, o bem-estar de um indivíduo. Esse termo engloba tanto prevenir, atenuar, aliviar quanto curar.

[066] A presente invenção visa, portanto, o uso de pelo menos um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa como agente destinado a tratar as vermelhidões cutâneas. Esse tratamento visa tanto as peles sadias quanto as peles que são a sede de uma patologia que apresenta um distúrbio do sistema cutâneo vascular.

[067] Mais especificamente, a presente invenção refere-se ao uso do extrato bacteriano como agente destinado ao tratamento das vermelhidões cutâneas, dos rubores e dos eritemas paroxísticos.

[068] A presente invenção refere-se ainda ao uso de pelo menos um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa para embelezar o aspecto da pele e/ou das mucosas, prevenir e/ou atenuar a intensidade das vermelhidões cutâneas e/ou os edemas cutâneos leves, clarear e/ou uniformizar a coloração da pele e/ou mascarar as vermelhidões de superfície e/ou atenuar os sinais da microcirculação cutânea, ou seja, tornar menos visíveis os microvasos sanguíneos aparentes em particular no rosto.

[069] A presente invenção refere-se igualmente ao extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa para seu uso para o tratamento das vermelhidões da rosácea. A presente invenção refere-se também ao uso de pelo menos um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa para a preparação de uma composição destinada ao tratamento das vermelhidões associadas a uma patologia cutânea, por exemplo, às vermelhidões da rosácea.

[070] A rosácea é uma dermatose comum crônica e progressiva ligada a um relaxamento vascular. Ela afeta principalmente a parte central do rosto e se caracteriza pelo “envermelhecimento” do rosto e por golfadas de calor, eritema facial, pápulas, pústulas, e telangiectasia. Nos casos graves, particularmente nos homens, o tecido mole do nariz pode inchar e produzir um inchaço bulboso chamado rinofima.

[071] A rosácea evolui geralmente em 4 estágios:

- estágio 1 dos relaxamentos vasculares com um componente neurogênico (por volta dos 20 anos). Os pacientes têm surtos de calor paroxísticos no rosto e no pescoço, com sensação de calor, mas sem sinais sistêmicos. Depois das crises, a pele do rosto volta a ser normal. Esses “rubores” são desencadeados pelas mudanças de temperatura (acarretando às vezes uma termofobia), a absorção de bebidas quentes ou de álcool.

- estágio 2 eritemato-telangiectásico (por volta dos 30 anos). As regiões malares ficam difusamente vermelhas. Observam-se nelas capilares dilatados que constituem a clássica cuperose. Diferentemente do estágio 1, a vermelhidão é permanente. Além das bochechas, o queixo e a parte mediana do rosto podem ser afetadas.

- estágio 3 das pápulo-pústulas (por volta dos 40 anos). Sobre um fundo de eritema, desenvolvem-se pápulas e pústulas de alguns milímetros de diâmetro, sem comedões associados. Essa dermatose pode ser muito extensas, às vezes na parte glabra do couro cabeludo nos homens, mas respeita o contorno da boca e dos olhos. Os pacientes se queixam de pele sensível, com intolerância subjetiva à maior parte dos produtos tópicos e cosméticos graxos.

- estágio 4 do rinofima (por volta dos 50 anos ou mais tarde). Essa fase tardia afeta principalmente os homens, diferentemente dos outros estágios. O nariz apresenta-se com volume aumentado, difusamente vermelho e os orifícios foliculares ficam dilatados. Ocorre um espessamento progressivo da pele.

[072] O uso de acordo com a presente invenção é particularmente apropriado ao tratamento das vermelhidões do primeiro estágio da rosácea.

[073] A presente invenção é também interessante para o tratamento dos eritemas cutâneos provocados pelos agentes externos, quer se trate de produtos suscetíveis de provocar uma irritação cutânea ou de agentes

atmosféricos (exposição à luz, ao vento, ao frio, ao ar seco, às variações bruscas de temperaturas ...).

[074] O uso de acordo com a presente invenção refere-se ainda a preparação de composições destinadas ao tratamento dos eritemas solares, das vermelhidões que acompanham uma queimadura, dos eritemas associados à dermatite atópica e dos eritemas associados à dermite seborréica.

[075] A presente invenção refere-se também, portanto, ao extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa para seu uso no tratamento dos eritemas solares, das vermelhidões que acompanham uma queimadura, dos eritemas associados a distúrbios cutâneos, da dermatite atópica e/ou dos eritemas associados à dermite seborréica.

[076] De acordo com um aspecto preferido da presente invenção, utiliza-se uma quantidade eficaz de um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa para a preparação de uma composição destinada a tratar os eritemas associados a distúrbios cutâneos, tais como a urticária, as dermatites eczematosas, a psoríase, o herpes, as fotodermatoses, a dermatite de contato, o líquen, os prurigos, as doenças pruriginosas, as fibroses, os distúrbios da maturação do colágeno, a esclerodermia, o eczema.

[077] A presente invenção tem também por objeto um processo de tratamento cosmético, caracterizado pelo fato de se aplicar uma quantidade eficaz de pelo menos um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa sobre a pele e/ou o couro cabeludo e/ou as mucosas e/ou semimucosas.

[078] Em particular, pode se tratar de um processo cosmético para prevenir e/ou atenuar as vermelhidões e/ou os sinais da microcirculação cutânea, caracterizado pelo fato de se aplicar uma quantidade eficaz de pelo menos um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa sobre a pele e/ou o couro cabeludo e/ou as mucosas e semimucosas.

[079] O extrato bacteriano de acordo com a presente invenção é utilizado para a preparação de composições de preferência tópicas, destinadas ao tratamento de distúrbios cutâneos que apresentam um componente eritematoso, sobretudo a rosácea, em particular do primeiro estágio da rosácea.

[080] Qualquer que seja seu destino, o extrato bacteriano de acordo com a presente invenção é administrado pela via mais apropriada para se obter o efeito desejado, em particular por via oral ou tópica, de preferência por via tópica.

[081] Por via tópica, entende-se uma administração dos extratos de acordo com a presente invenção ou das composições que o compreendem por aplicação sobre a pele.

[082] Salvo indicação contrária, de acordo com a presente invenção, por pele, entende-se qualquer superfície cutânea do corpo que inclui a pele e estendida ao couro cabeludo e às mucosas e semimucosas. Por fâneros, entendem-se os cílios, pêlos, cabelos e unhas.

[083] As composições tópicas de acordo com a presente invenção que se destinam ao tratamento da pele, das mucosas e semimucosas e do couro cabeludo podem se apresentar em forma de ungüento, de cremes, de leites, de pomadas, de pós, de tampões embebidos, de soluções, de géis, de sprays, de loções, ou de suspensões. Elas podem também se apresentar em forma de microesferas ou nanoesferas ou de vesículas lipídicas ou poliméricas ou de emplastos poliméricos e de hidrogéis que permitem uma liberação

controlada. Essas composições por via tópica podem se apresentar em forma anidra, ou em forma aquosa.

[084] As composições se destinam em particular à higiene capilar. Elas podem se apresentar em particular em forma de um creme, de um leite, de uma loção, de um gel, de microesferas ou de nanoesferas ou vesículas lipídicas ou poliméricas, de um sabão ou de um xampu.

[085] Nas composições de acordo com a presente invenção, o extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em água mineral e/ou termal não sulfurosa é vantajosamente utilizado em associação com retinóides ou corticosteróides, ou associado com antirradicais livres, com alfa-hidróxi ou alfa-ceto ácidos ou seus derivados, ou ainda bloqueadores de canais iônicos.

[086] As composições dermocosméticas de acordo com a presente invenção podem, ainda, conter aditivos inertes ou mesmo farmacodinâmica ou cosmeticamente ativos ou combinações desses ativos e em particular: agentes umectantes, agentes despigmentantes tais como a hidroquinona, o ácido azelaico, o ácido caféico ou o ácido cójico; emolientes; agentes hidratantes tais como o glicerol, o PEG 400, a uréia; os agentes anti-seborréicos ou antiacnéicos, tais com a S-carboximetilcisteína, a S-benzilcisteamina, seus sais e seus derivados, ou o peróxido de benzoila; antibióticos como a eritromicina e seus ésteres, a neomicina, a clindamicina e seus ésteres, as tetraciclina; agentes antifúngicos tais como o quetoconazol ou as polimetileno-4,5 isotiazolidonas-3; agentes que favorecem o renascimento dos cabelos como o Minoxidil (2,4-diamino-6-piperidino-pirimidina-3-óxido) e seus derivados, o Diazóxido (7-cloro 3-metil 1,2,4-benzotidiazina 1,1-dióxido) e a Fenitoína (5,4-difenil-imidazollina 2,4-diona); agentes antiinflamatórios não esteroidianos, carotenóides e em particular o β -caroteno; agentes antipsoríaticos tais como a antralina e seus derivados; e

finalmente os eicosa-5,8,11,14-tetranóico e o eicosa 5,8,11-triinoico seus ésteres as amidas.

[087] A composição de acordo com a presente invenção pode ainda conter agentes conservantes, tais como ésteres do ácido para-hidroxibenzóico, agentes estabilizantes, agentes reguladores de umidade, agentes emulsionantes, filtros UVA e UVB, antioxidantes, tais como o álcool tocoferol, o butil-hidroxianisol ou o butil-hidroxitolueno.

[088] O objeto da presente invenção refere-se igualmente a composições que associam pelo menos um extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa com outro ou outros ativos, escolhidos em particular entre os agentes que agem sobre a microcirculação.

[089] Os agentes que agem sobre a microcirculação (vasoprotetor, vasoconstritor) podem ser escolhidos entre os flavonóides, as ruscogeninas, os esculosidos, a escina extraída da castanha da Índia, os nicotinatos, a heperidina metil chalcona, os óleos essenciais de lavanda ou de alecrim, os extratos de Ammi Visnaga.

[090] A quantidade desses ativos pode variar em grande escala. De modo geral, esses ativos estão presentes em uma concentração que vai de 0,01 a 15 % e de preferência de 0,05 a 10 % em peso em relação ao peso total da composição.

[091] A composição de acordo com a presente invenção pode também constituir uma composição cosmética colorida e em particular uma composição de maquiagem da pele, das fibras queratínicas (cabelos ou cílios) e/ou das mucosas, em particular uma base para a pele, uma maquiagem para as bochechas ou as pálpebras, um batom ou um brilho para os lábios, que apresentam eventualmente propriedades de cuidado ou de tratamento. De preferência, pode se tratar de uma composição colorida (bege ou verde)

destinada a corrigir a cor da tez e mais particularmente atenuar ou camuflar as vermelhidões.

[092] Por composição colorida que mascara as vermelhidões de acordo com a presente invenção, entende-se preferencialmente uma composição colorida de cor verde. A composição da presente invenção compreende então um ou mais agentes corantes de modo a conferir à composição a tonalidade verde desejada. O conceito da tonalidade verde é escolhido de acordo com o princípio de oposição das cores simbolizado pelo círculo cromático. A intensidade de uma cor pode ser diminuída pela adição da cor oposta no círculo cromático em que estão representadas todas as cores, e cada uma delas tem seu oposto. Como o verde é oposto ao vermelho no círculo cromático, escolheu-se uma tonalidade verde para colorir a composição de acordo com a presente invenção a fim de neutralizar as vermelhidões difusas da pele.

[093] A fim de conferir a tonalidade verde desejada à composição da presente invenção, agentes corantes são incorporados à composição.

[094] Por agente corante, entende-se o termo genérico empregado pelo técnico no assunto, que define uma substância que confere uma cor a um meio (Artigo de Gisbert Otterstätter: "Coloring Cosmetics", Cosmetics&toiletries magazine, vol. 111, Março 1996, página 25-33), tal como:

- os corantes definidos como solúveis no meio a ser colorido. Eles são freqüentemente lipossolúveis ou hidrossolúveis,
- os pigmentos ou lacas de cor geralmente insolúveis no meio a ser colorido, e as lacas são obtidas por precipitação de corantes hidrossolúveis com um sal insolúvel na água, tal como um hidróxido de alumínio,
- os pigmentos hidrodispersíveis que, por adição de um solvente, conduzem a dispersões estáveis na água que permitem sua utilização como corantes, considerados sozinhos ou em mistura.

[095] A título de exemplos não limitativos de agentes corantes utilizáveis na presente invenção, pode-se citar os pigmentos tais como os óxidos ou hidróxidos de ferro, marrom, amarelo ou vermelho, os óxidos ou hidróxidos de cromo, os óxidos ou hidróxidos de titânio, as misturas de corantes azuis e amarelos tais como as lacas indicadas pelas referências FD&C Blue nº1 aluminium Lake (E133), FD&C Blue nº2 aluminium Lake (E132), FD&C Yellow nº5 Aluminium Lake (E102), ou FD&C Yellow nº6 Aluminium Lake (E110).

[096] Os agentes corantes de acordo com a presente invenção podem ser utilizados sozinhos ou em misturas a fim de conferir a cor verde desejada à composição da presente invenção,

[097] De acordo com um modo preferido da presente invenção, a composição compreende ainda óxidos de titânio ao lado de outros agentes corantes por suas propriedades de recobrimento.

[098] Os agentes corantes escolhidos de acordo com a presente invenção deverão ainda ser compatíveis com uma aplicação sobre a pele e as mucosas, sem provocar um efeito indesejável.

[099] A composição de acordo com a presente invenção contém preferencialmente uma quantidade total de agentes corantes que varia de 0,001% a 10% em peso da composição, devendo ficar claro que, de preferência, a quantidade total de agentes corantes não poderá exceder 1% em peso da composição. Cada agente corante é utilizado em proporções que variam de 0,0001 a 1 % em peso da composição.

[0100] As misturas de agentes corantes preferidos utilizados para a composição de acordo com a presente invenção são as seguintes:

- FD&C blue nº2 aluminium lake + óxido de ferro amarelo + dióxido de titânio;
- Hidróxido de cromo + Óxido de ferro amarelo + dióxido de titânio;
- FD&C blue nº1 aluminium lake + óxido de ferro amarelo +

dióxido de titânio;

- Hidróxido de cromo + dióxido de titânio.

[0101] Em outra variante da presente invenção, o extrato de bactéria filamentosa não fotossintética e não frutificante cultivada em um meio que compreende pelo menos uma água mineral e/ou termal não sulfurosa está associado a um ativo destinado a tratar a rosácea.

EXEMPLO 1 - PREPARAÇÃO DE UM EXTRATO BACTERIANO DE ACORDO COM A INVENÇÃO: BIOMASSA DE *VITREOSCILLA FILIFORMIS* CULTIVADA EM UM MEIO ENRIQUECIDO COM ÁGUA TERMAL LA ROCHE POSAY

[0102] Preparação do meio de cultura:

Composição:

* Extrato de levedura	2 a 3 g
* Peptona Papaínica de soja	2 a 3 g
* Glicose	2 a 3 g
* Micro elemento de Heller	2 ml
* $\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$	66,21 mg
* Água Termal La Roche Posay	13 -14 ml.

[0103] Essa solução mãe será diluída com água em osmose em uma relação de 1/75 antes da esterilização.

[0104] O pH do meio é ajustado a 5,00 com uma solução molar H_3PO_4 . O meio é esterilizado por autoclavagem a 121 °C durante 30 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, o pH é reajustado a 7,20 por adição de uma solução molar de KOH.

[0105] Cultura:

Após inoculação a 1% do meio da linhagem *Vitreoscilla filiformis*, a cultura é colocada em agitação orbital a 100 rpm e a 26 °C. Após 48 horas de crescimento, a cultura é centrifugada a 8000 g durante 15 minutos. Os sedimentos celulares são recuperados e autoclavados a 121 °C durante 30

minutos. Essa biomassa é utilizada para testes de avaliação.

EXEMPLO 2 - ATIVIDADE DO EXTRATO BACTERIANO DE ACORDO COM A INVENÇÃO
(BIOMASSA DE *VITREOSCILLA FILIFORMIS* CULTIVADA EM UM MEIO ENRIQUECIDO DE
ÁGUA TERMAL DE LA ROCHE POSAY)

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS:

[0106] A medida da atividade de 4 produtos: biomassa de *Vitreoscilla filiformis* cultivada em um meio suplementado com Sr, Se e Zn (**D8**), biomassa de *Vitreoscilla filiformis* cultivada em um meio enriquecido com água termal de La Roche Posay (**B51** preparada de acordo com o 1), biomassa de *Vitreoscilla filiformis* cultivada em um meio H₂O em osmose (**A28**) e biomassa de *Vitreoscilla filiformis* cultivada em um meio suplementado com Sr (**E1**) é avaliada em um explante de pele humana em sobrevida ao qual é administrada a substância P.

PREPARAÇÃO DAS PELES

[0107] 8 peles humanas de doadores diferentes foram obtidas em mulheres com consentimento (idade entre 25 e 50 anos), após cirurgia plástica e mantidas em sobrevida *ex-vivo*.

[0108] Os fragmentos de pele foram depositados em insertos, colocados por sua vez em suspensão acima de poços de cultura. Meio (Meio Essencial Mínimo de Dulbecco, D-MEM) (antibióticos, SVF) foi adicionado no fundo dos poços, e uma passagem foi efetuada por difusão lenta entre os dois compartimentos por meio de uma membrana porosa (0,45 mm). 5 horas de reequilíbrio são necessárias antes de iniciar o protocolo.

APLICAÇÃO DO MEIO NUTRITIVO E MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMAÇÃO

NEUROGENICA POR MEIO DA SUBSTANCIA P:

[0109] Após 5 horas de reequilíbrio, os produtos foram adicionados para pré-tratamento ao meio de cultura D-MEM à concentração de 30%. Os fragmentos de pele foram então mantidos em cultura de órgãos

durante 24 horas em uma estufa de atmosfera úmida, a 37°C e em presença de 5% de CO₂.

[0110] No D1, o modelo experimental de inflamação neurogênia foi realizado pela adição de 10 µM de substância P (SP) ao meio de cultura. Os meios nutritivos foram renovados e 24 horas de incubação adicionais foram efetuadas para todas as condições.

[0111] Foi assim realizado um estudo comparativo entre as 6 condições indicadas a seguir:

MODELO DE ESTIMULAÇÃO POR SP EM COMPARAÇÃO COM A PELE DE CONTROLE:

- pele de controle (condição de base : pele não estimulada, não tratada) com meio D-MEM,

- pele estimulada pela substância P a 5 µM em meio D-MEM,
- pele estimulada pela substância P a 5 µM em meio D-MEM + **B51**
- pele estimulada pela substância P a 5 µM em meio D-MEM + **E1**
- pele estimulada pela substância P a 5 µM em meio D-MEM + **A28**
- pele estimulada pela substância P a 5 µM em meio D-MEM + **D8**

ANÁLISES

[0112] Os fragmentos de peles foram fixados no líquido de Bouin e incluídos em parafina.

AValiação histológica da desgranulação dos mastócitos:

[0113] Os mastócitos presentes na derme foram revelados em azul-violeta pela coloração com azul de toluidina. Histologicamente observou-se um aspecto azul-violeta mais ou menos intenso e granuloso dos mastócitos em relação com a presença maior ou menor em seu citoplasma de granulações basófilas e metacromáticas contendo em particular histamina.

[0114] Os mastócitos foram a seguir contabilizados no microscópio ótico (15 setores em crescimento x 40, em 3 planos de coupe) e foram classificados pelos 3 "scores" indicados a seguir:

- *score 3*: células fortemente basófilas com presença de uma coloração intensa azul-violeta que recobre todo o citoplasma ou situada de modo preferencial em um pólo da célula (mastócitos que contêm um número elevado de granulações basófilas).

- *score 2*: células coloridas de forma moderada e homogênea em todo o citoplasma da célula, ou que comportam um halo fraco azul-violeta situado na periferia da célula (mastócitos que contêm um número moderado de granulações basófilas).

- *score 1*: mastócitos desgranulados com desaparecimento da coloração azul-violeta do citoplasma ou persistência de alguns grãos raros dispostos de modo esparso no citoplasma (mastócitos que contêm um pequeno número de granulações basófilas).

[0115] A desgranulação obtida após aplicação da substância P é responsável por uma diminuição ou uma ausência da coloração com azul de toluidina dos mastócitos. Essa diminuição da coloração está em relação com uma diminuição ou um desaparecimento quase completo do número de granulações presentes inicialmente no citoplasma dos mastócitos.

[0116] Os resultados estão expressos da seguinte maneira: para cada sujeito, a porcentagem de mastócitos de cada escore foi calculada em relação ao número total de mastócitos.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

[0117] Foi realizada uma média a partir dos resultados obtidos nas 8 peles. A análise estatística foi efetuada pelo teste de Student chamado de erro reduzido ou teste de amostras emparelhadas, com um risco α de 5%.

RESULTADOS:

AValiação histológica da desgranulação dos mastócitos

[0118] Em um modo de pele mantido em sobrevida estimulado pela SP, foi observada uma diminuição estatisticamente significativa da porcentagem de

mastócitos fortemente granulados (escore 3): 40% versus 80% nas peles de controle (**Figura 1 a seguir**; $p < 0,05$). A substância P tem, portanto, como efeito uma desgranulação dos mastócitos.

[0119] Nenhuma diferença significativa entre a % de mastócitos de escore 3 foi observada na condição « SP + B51 » e a observada na condição « Controle » (escore de 75% versus 80%).

[0120] Essa ausência de diferença mostra um efeito protetor do extrato utilizado de acordo com a presente invenção sobre a desgranulação induzida pela substância P.

[0121] Uma proteção induzida pelos produtos E1, A28, D8 foi também observada, mas ela é significativamente menos elevada que a que foi constatada para o produto B51.

[0122] A **figura 1** mostra que as 4 preparações são estatisticamente diferentes em comparação com o explante tratado pela substância P. **A fração B51 é a única que restaura uma função normal.** * $p < 0,05$ versus pele tratada / *diese* $p < 0,05$ versus pele tratada com a substância P

#: diferença estatisticamente significativa em relação à mesma condição sem SP (teste emparelhado de Student, $p < 0,05$)

*: diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (teste emparelhado de Student, $p < 0,05$)

CONCLUSÃO

[0123] Nesse modelo de pele humana mantido em sobrevida, foi evidenciado um efeito antiinflamatória da fração B51 útil de acordo com a presente invenção.

EXEMPLO 3 - ESTUDO CLÍNICO

DADOS CLÍNICOS:

[0124] Um primeiro estudo clínico (estudo 1), duplo-cego, foi avaliado intraindividualmente o efeito comparativo que um creme que contém

5% de extrato de *Vitreoscilla filiformis* (V. f.) cultivada de modo clássico (denominado a seguir « extrato clássico » em vermelhidões presentes em sujeitos acometidos de dermatites atópicas leves a moderadas (lesões simétricas contra placebo).

[0125] O referido extrato clássico de *Vitreoscilla filiformis* foi preparado de acordo com as seguintes modalidades:

- Preparação do meio de cultura:

Composição:

* Extrato de levedura	2 g
* Peptona Papaínica de soja	2 g
* Glicose	2 g
* Micro elementos de Heller	2 ml
* $\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$	66,21 mg
* Água	qsp 1 l

[0126] O pH do meio é então ajustado a 5,00 por uma solução molar H_3PO_4 . O meio é esterilizado por autoclavagem a 121 °C durante 30 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, o pH é reajustado a 7,20 por adição de uma solução molar de KOH.

- Cultura:

[0127] No laboratório: Após inoculação a 1% do meio com a linhagem *Vitreoscilla filiformis*, a cultura é colocada sob agitação orbital a rpm e a 26 °C. Após 48 horas de crescimento, a cultura é centrifugada a 8000 g durante 15 minutos. Os sedimentos celulares são recuperados e autoclavados a 121 °C durante 30 minutos. Essa biomassa pode ser utilizada para testes de avaliação.

[0128] No fermentador: em um fermentador dotado preferencialmente de um draft tubo para limitar o cisalhamento, inocula-se a linhagem de *Vitreoscilla filiformis* a 1% volume mínimo. O pH é mantido estável

7 UpH durante toda a cultura, a T° é regulada entre 26 e 28 °C e a oxigenação mantida a 10% pO₂ durante toda a cultura por ação sobre a velocidade de agitação, ou então por regulação do fluxo de ar. Esse tipo de cultura pode ser realizado em batelada, *fed-batch* ou continuamente. Essa última técnica é preferida pois ela garante uma biomassa reprodutível graças ao controle da taxa de crescimento (μ). A biomassa coletada continuamente, por centrifugação a 10 000 g é congelada a -20 °C. Quando a cuba de congelamento estiver cheia, ela é descongelada a 4 °C e condicionado em manipuláveis por um operador. Essas embalagens que contêm a biomassa são então esterilizadas para ser estabilizadas. Cada operação de esterilização representa então um moto de fabricação.

[0129] Nesse estudo, a composição que compreende o extrato bacteriano chamado “extrato clássico” é aplicada 2 vezes por dia, e foi muito bem tolerada.

[0130] O extrato é formulado na composição 1A que é uma fórmula que contém 5% do extrato clássico em uma emulsão óleo em água/Arlacel/Myrj que contém 5% de Parleam e 15% de silicone volátil. O efeito dessa composição 1A foi comparado a um placebo: a composição 2A que corresponde ao excipiente: emulsão óleo em água/Arlacel/Myrj que contém 5% de Parleam e 15% de silicone volátil.

[0131] Essa composição que contém o extrato “clássico” de *Vitreoscilla filiformis* a 5% não tem um efeito significativo sobre o componente vascular dos distúrbios da pele dos sujeitos testados.

[0132] Inversamente, em um segundo estudo efetuado (estudo 2 realizado nas mesmas condições que o anterior pela mesma equipe de experimentadores), a composição contendo 5% de extrato de *Vitreoscilla filiformis* cultivado em um meio enriquecido com água termal La Roche Posay

(preparado de acordo com o exemplo 1) demonstrou igualmente uma eficácia específica sobre o componente vascular da afecção.

[0133] O extrato é formulado na composição 1B que é uma fórmula que contém 5% de extrato bacteriano de acordo com a presente invenção (obtido segundo o exemplo 1) em uma emulsão óleo em água desmineralizada Arlacel/Myrj contendo 5% de Parleam, 15% de ciclopentassiloxano, 3% de glicerina e 2% de vaselina. O efeito dessa composição 1B é comparado como de um placebo: a composição 2B que corresponde a uma emulsão óleo em água de La Roche Posay Arlacel/Myrj contendo 5% Parleam, 15% de ciclopentassiloxano, 3% de glicerina e 2% de vaselina.

[0134] A eficácia foi observada no período de 15 dias que sucedeu a aplicação.

[0135] Assim, os extratos bacterianos cultivados na água La Roche Posay da composição 1B, contrariamente aos extratos bacterianos conhecidos, **diminuíram significativamente as manifestações cutâneas associadas ao eritema** dos sujeitos nas regiões em que foram tratados em comparação com o efeito do placebo no lado contralateral ($p=0,02$, Teste de Fisher).

EXEMPLO 4 - EXEMPLOS DE FORMULAÇÕES

FÓRMULA CREME

Fases	Componentes	% (p/p)
A1	Água purificada	QSP 100%
A1	Glicerina	4,00
A1	Sorbitol	5,00
A2	Metronidazol	0,75
A3	Extrato bacteriano de acordo com a	5

Fases	Componentes	% (p/p)
	invenção	
B1	palmitato de isopropila	2,00
B1	Cera autoemulsionável	12,50
B2	óxido de ferro amarelo	0,0045
B2	óxido de cromo verde	0,020
B3	dióxido de Titânio	0,50
C	Álcool benzílico	2,20
D	Ácido láctico 90%	Qs pH 5

PREPARAÇÃO DAS FASES - MODO OPERATÓRIO

FASE GRAXA B

[0136] A 75 °C, solubilizar sob agitação (Rayneri agitação fraca) a cera autoemulsionável no palmitato de isopropila (B1) para conduzir à obtenção de uma fase límpida homogênea.

[0137] Introduzir em seguida sob agitação Rayneri o pigmento amarelo e depois o pigmento verde (B2) e o dióxido de titânio (B3). Dispersar durante 30 min (Rayneri agitação moderada) para conduzir à obtenção de uma fase verde homogênea.

FASE AQUOSA A

[0138] A 75 °C, homogeneizar a glicerina e o sorbitol (A1) dans água purificada sob agitação (Rayneri agitação fraca).

[0139] Introduzir em seguida o metronidazol (A2), verificar sua boa solubilização.

[0140] Colocação em emulsão a 75°C introduzindo a fase B (B1+B2) na fase A (Rayneri agitação moderada), manter essa temperatura durante 10 min.

[0141] Colocação em resfriamento até 45°C. Introduzir o álcool benzílico sob agitação (Rayneri agitação moderada), homogeneizar o conjunto.

[0142] Resfriar até 25°C sob agitação, medir o pH e ajustá-lo se necessário qsp pH 5.

[0143] Esse modo operatório conduz à obtenção de um creme de cor verde claro.

FÓRMULA LOÇÃO

Fases	Componentes	% (p/p)
A1	Água purificada	QSP 100%
A1	Glicerina	7,00
A2	Carbômero 981	0,15
A3	PEG 400	2,00
A4	estearet 21	3,00
A5	Metronidazol	0,75
A6	Extrato bacteriano de acordo com a invenção	5%
B1	Óxido de ferro amarelo	0,0045
B1	Óxido de cromo verde	0,02
B1	dióxido de Titânio	0,50
B1	Óleo mineral	6,00
B2	gliceril & PEG 100 estearato	3,00
B2	álcool estearílico	2,00
C	Álcool benzílico	1,30

Fases	Componentes	% (p/p)
D	Água purificada	2,00
D	Sorbato de potássio	0,20
E	ciclometicona 5	4,00
F	solução de hidróxido de Sódio a 10%	Qs pH 5
F	solução a 1% de ácido láctico (90%)	Qs pH5

PREPARAÇÃO DAS FASES - MODO OPERATÓRIO

FASE GRAXA B

[0144] A 80 °C, dispersar sob agitação durante 15 min. os pigmentos amarelo e verde no óleo mineral (Rayneri agitação moderada). Introduzir em seguida o dióxido de titânio, homogeneizar durante 15 min.

[0145] Manter a temperatura a 80 °C, e introduzir em seguida o estearato de glicerila e PEG 100, e o álcool estearílico (B2), homogeneizar até solubilização completa das ceras para obter uma fase homogênea verde.

FASE D

[0146] Solubilizar o sorbato de potássio dans na água purificada.

FASE AQUOSA A

[0147] A 80 °C, dispersar o Carbômero 981 (Rayneri velocidade moderada) na água purificada e na glicerina.

[0148] Introduzir o PEG 400 (A3) e o estearet 21 (A4), homogeneizar durante 5 min.

[0149] Introduzir em seguida o metronidazol (A5), verificar sua boa solubilização.

[0150] Colocação em emulsão a 80 °C introduzindo a fase graxa B na fase aquosa A sob agitação (Rayneri agitação moderada). Homogeneizar durante 10 min.

[0151] Colocação em resfriamento.

[0152] A 40 °C, introduzir as Fases C, D, e E.

[0153] Resfriar sob agitação até 25 °C, medir o pH e ajustá-lo se necessário qsp PH 5 com a solução de soda a 10% ou o ácido láctico a 1%.

[0154] O modo operatório conduz à obtenção de um fluido gelificado de cor verde claro.

FÓRMULA CREME

Fases	Componentes	% (p/p)
A1	Água purificada	QSP 100%
A1	Glicerina	4,00
A1	Sorbitol	5,00
A2	Metronidazol	0,75
A3	Extrato bacteriano de acordo com a invenção	2
B1	palmitato de isopropila	2,00
B1	Cera autoemulsionável	12,50
B2	óxido de ferro amarelo	0,0095
B2	FD&C Blue Aluminium Lake	0,0068
B3	dióxido de Titânio	0,50
C	Álcool benzílico	2,20
D	Ácido láctico 90% QSP PH 5	Qs pH 5

FASE AQUOSA

[0155] Em um béquer, pesar a glicerina, o sorbitol, o álcool benzílico e a água purificada. Introduzir em seguida o metronidazol.

[0156] Fazer a fase aquecer a 75 °C e, a seguir, solubilizar o ativo sob agitação moderada durante 20 minutos.

FASE GRAXA

[0157] Em um béquer, pesar a cera autoemulsionável e o palmitato de isopropila. Fazer a fase aquecer a 75 °C, homogeneizar a fase sob agitação ultra-turrax. Introduzir em seguida os pigmentos pesados juntamente e o dióxido de titânio sob agitação com ultra-turrax a 8000 rpm durante pelo menos 20 minutos.

EMULSIFICAÇÃO E RESFRIAMENTO

[0158] Colocação em emulsão a 75 °C durante 10 minutos sob agitação Rayneri moderada introduzindo a fase graxa na fase aquosa.

[0159] Colocação em resfriamento sob agitação fraca.

[0160] Obtenção de um creme espesso verde homogêneo.

FÓRMULA CREME

Fases	Componentes	% (p/p)
A1	Água purificada	QSP 100%
A1	Glicerina	4,00
A1	Sorbitol	5,00
A3	Extrato bacteriano de acordo com a invenção	5
B1	palmitato de isopropila	2,00
B1	Cera autoemulsionável	12,50
B2	óxido de ferro amarelo	0,0045
B2	hidróxido de cromo verde	0,020
B3	dióxido de Titânio	0,50
C	Álcool benzílico	2,20
D	Ácido láctico 90% QSP PH 5	Qs pH 5

[0161] O modo operatório é o mesmo que o da formulação anterior.

FÓRMULA CREME

Fases	Componentes	% (p/p)
A1	Água purificada	QSP 100%
A1	Glicerina	4,00
A1	Sorbitol	5,00
A3	Extrato bacteriano de acordo com a invenção	5
B1	palmitato de isopropila	2,00
B1	Cera autoemulsionável	12,50
B2	óxido de ferro amarelo	0,019
B2	FD&C Blue Aluminium Lake	0,0136
B3	dióxido de titânio	1,00
C	Álcool benzílico	2,20
D	Ácido láctico 90% QSP PH 5	Qs pH 5

[0162] O modo operatório é o mesmo que o da formulação anterior.

REIVINDICAÇÕES

1. USO COSMÉTICO DE PELO MENOS UM EXTRATO DE BACTÉRIA *VITREOSCILLA FILIFORMIS*, cultivada em um meio que compreende água de La Roche Posay, caracterizado pelo fato de ser como agente destinado a tratar as vermelhidões cutâneas.

2. USO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de a referida bactéria *Vitreoscilla filiformis* ser da linhagem ATCC 15551.

3. USO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 2, caracterizado pelo fato do extrato estar presente à razão de 0,001 a 20% em peso em relação ao peso total da composição.

4. USO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser como agente destinado ao tratamento das vermelhidões cutâneas, dos rubores e dos eritemas paroxísticos.

5. USO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser para mascarar as vermelhidões de superfície e/ou atenuar os sinais da microcirculação cutânea.

6. USO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de ser como agente destinado ao tratamento dos eritemas cutâneos provocados por agentes externos e/ou agentes atmosféricos.

7. USO DE PELO MENOS UM EXTRATO DE BACTÉRIA *VITREOSCILLA FILIFORMIS*, em um meio que compreende de La Roche Posay, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição destinada ao tratamento das vermelhidões cutâneas.

8. USO, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato da composição se destinar ao tratamento dos eritemas solares, das vermelhidões associadas a um distúrbio cutâneo, das vermelhidões que acompanham uma queimadura, dos eritemas associados à dermatite atópica,

da rosácea e/ou dos eritemas associados à dermatite seborréica.

9. USO, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato da composição se destinar ao tratamento das vermelhidões cutâneas do primeiro estágio da rosácea.

10. USO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato do referido extrato estar associado a pelo menos um ativo escolhido entre os retinóides; os corticosteróides, os anti-radicais livres; os ácidos alfa-hidróxi ou alfa-ceto ou seus derivados; os bloqueadores de canais iônicos; os agentes umectantes, os agentes despigmentantes; os emolientes; os agentes hidratantes; os agentes anti-seborréicos ou antiacnéicos; os antibióticos; os agentes antifúngicos; os agentes que favorecem o renascimento dos cabelos; os agentes antiinflamatórios não esteroidianos; os carotenóides; os agentes antipsoríase; os agentes conservantes; os agentes estabilizantes; os agentes reguladores de umidade; os agentes emulsionantes; os filtros UVA e UVB; os antioxidantes.

11. COMPOSIÇÃO QUE COMPREENDE PELO MENOS UM EXTRATO DE BACTÉRIA *VITREOSCILLA FILIFORMIS*, caracterizada pelo fato de compreender pelo menos um extrato de bactéria *Vitreoscilla filiformis* cultivada em um meio que compreende água de La Roche Posay com um agente escolhido entre os agentes que agem sobre a microcirculação vasoprotetora ou vasoconstritor; uma substância que confere uma cor à pele e/ou um ativo destinado a tratar a rosácea.

12. COMPOSIÇÃO DE MAQUILAGEM de cor verde, caracterizada pelo fato de compreender pelo menos um extrato de bactéria *VITREOSCILLA FILIFORMIS* cultivada em um meio que compreende água de La Roche Posay e uma substância que confere uma cor verde.

13. COMPOSIÇÃO, de acordo com uma das reivindicações 11 ou 12, caracterizada pelo fato de a referida bactéria *Vitreoscilla filiformis* ser de

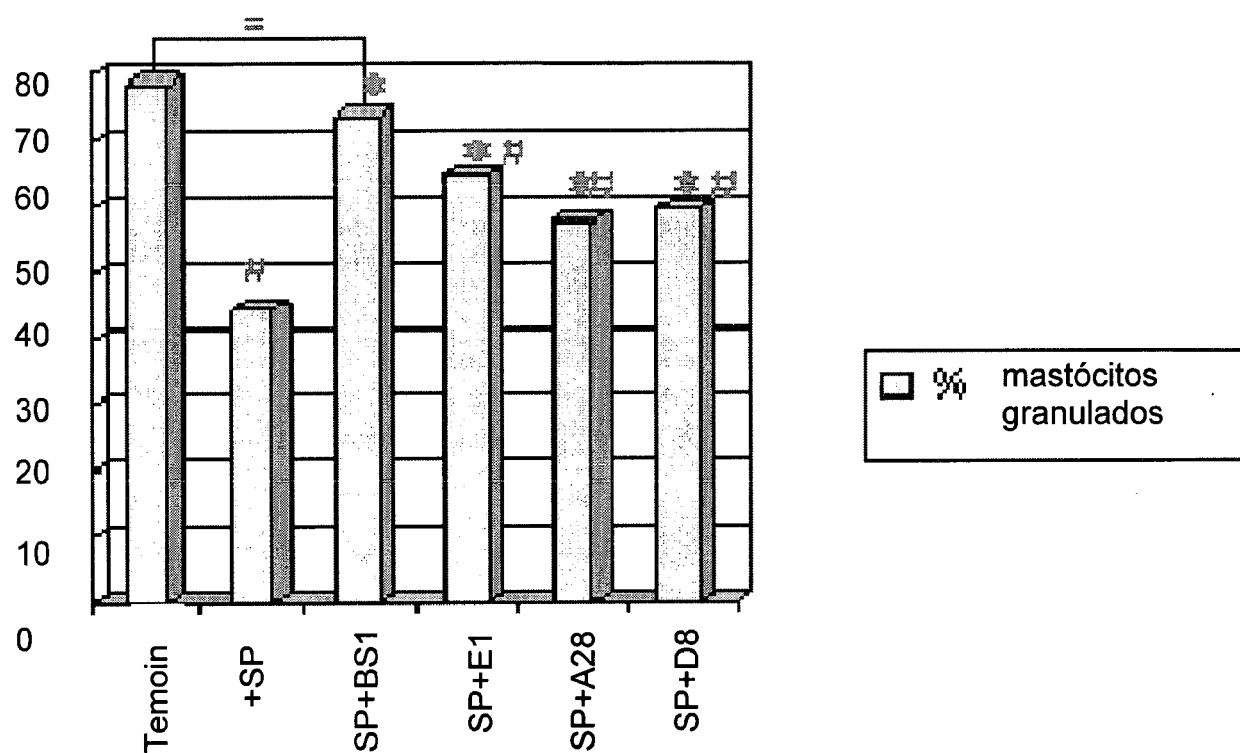
linhagem ATCC 15551.

14. COMPOSIÇÃO, de acordo com uma das reivindicações 11 a 13, caracterizada pelo fato do extrato estar presente à razão de 0,001 a 20% em peso em relação ao peso total da composição.

15. PROCESSO COSMÉTICO PARA PREVENIR E/OU ATENUAR AS VERMELHIDÕES E/OU OS SINAIS DA MICROCIRCULAÇÃO CUTÂNEA, caracterizado pelo fato de se aplicar uma quantidade eficaz de pelo menos um extrato de bactéria *Vitreoscilla filiformis* cultivada em um meio que compreende água de La Roche Posay sobre a pele e/ou o couro cabeludo e/ou as mucosas ou semimucosas.

16. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de a referida bactéria *Vitreoscilla filiformis* ser da linhagem ATCC 15551.

17. PROCESSO, de acordo com uma das reivindicações 15 a 17, caracterizado pelo fato do referido extrato estar presente à razão de 0,001 a 20% em peso em relação ao peso total da composição.



Avaliação histológica após coloração por azul de toluidina da porcentagem de mastócitos de valor 3 (média, n=8)

Fig. 1