



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

**(21) PI 0719431-5 A2**



(22) Data de Depósito: 29/11/2007  
(43) Data da Publicação: 03/12/2013  
(RPI 2239)

**(51) Int.Cl.:**  
**A61K 35/74**  
**A61P 17/00**  
**A61P 17/06**

**(54) Título:** COMPOSIÇÃO, KIT, USO DE UMA  
COMBINAÇÃO DE MICROORGANISMO, E, MÉTODO  
PARA A PRODUÇÃO DA COMPOSIÇÃO OU DO KIT.

**(57) Resumo:**

**(30) Prioridade Unionista:** 01/12/2006 EP 06024920.8

**(73) Titular(es):** Organobalance Gmbh

**(72) Inventor(es):** Adreas Heilmann, Andreas Reindl, Christine  
Lang, Markus Veen, Mewes Böttner

**(74) Procurador(es):** Momsen, Leonardos & CIA.

**(86) Pedido Internacional:** PCT EP2007010388 de  
29/11/2007

**(87) Publicação Internacional:** WO 2008/064893de  
05/06/2008

“COMPOSIÇÃO, KIT, USO DE UMA COMBINAÇÃO DE MICROORGANISMOS, E, MÉTODO PARA A PRODUÇÃO DA COMPOSIÇÃO OU DO KIT”

5 A presente invenção refere-se às composições e aos kits compreendendo:

(i) microorganismos que são capazes de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e

10 (ii) microorganismos que são capazes de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele, com o objetivo de proteger a pele contra microorganismos patogênicos e tratar doenças de pele. A presente invenção  
15 também se refere ao uso dos microorganismos acima mencionados para a produção de composições e kits compreendendo tais microorganismos.

A pele humana é povoada por uma grande variedade de microorganismos que principalmente vivem como microorganismos comensais em uma composição relativamente estável sobre a superfície da  
20 pele (Roth e James, 1988). Esta flora normal da pele é chamada de "flora residente da pele".

A função principal da pele humana é proteger o tecido abaixo dela contra o ambiente (Feingold, 1985). Esta flora normal da pele protege a pele contra a intrusão de microorganismos potencialmente patogênicos  
25 (Bisno, 1984). Certos microorganismos dominam a flora microbiana residente. Mais do que noventa por cento dos microorganismos da flora microbiana residente são *Staphylococcus epidermidis* (coagulase negativo), *Micrococcus* spec., Diferóides e propionibactérias (Leyden et al., 1987). Portanto, uma estabilização da flora natural da pele suporta a proteção da pele

e previne a intrusão de patógenos. A saúde da pele aumenta. A importância da flora natural da pele tem sido descrita em vários estudos clínicos. Tem sido mostrado que nos primeiros dias após nascimento de um infante, onde esta flora de pele ainda não tem sido desenvolvida, o perigo de uma infecção por *Staphylococcus aureus* é muito alto. Com desenvolvimento crescente da flora, a pele é protegida da colonização por microorganismos patogênicos (Hurst, 1959). Em outro estudo com infantes, tem sido observado que após tratamento com o antibiótico amoxicilina, a flora residente foi drasticamente (cerca de 50%) reprimida. Isto levou a um aumento maior do que quatorze vezes da levedura patogênica *Candida albicans*. A descontinuação do tratamento com antibiótico acarretou uma regeneração da flora residente e a repressão de *Candida albicans* (Brook, 2000).

Os microorganismos da flora residente de pele previnem a colonização por microorganismos patogênicos pela competição por sítios de fixação e nutrientes essenciais sobre a superfície da pele (Sullivan et al. 2001). Microorganismos patogênicos são capazes de especificamente se fixarem em estruturas da epiderme usando proteínas ligantes especiais. Neste contexto, mecanismos diferentes são conhecidos. De *Staphylococcus aureus*, por exemplo, adesinas específicas são conhecidas. Estas permitem que o microorganismo patogênico se fixe nas estruturas de fibronectina. Patógenos geralmente têm um potencial mais alto para se fixarem no hospedeiro. Isto explica a virulência destes microorganismos (Gibbons e Houte, 1975).

O perigo de colonização por microorganismos patogênicos aumenta drasticamente no caso de lesões pequenas ou outros danos sobre a superfície da pele, especialmente quando a flora normal da pele é danificada ou por lavagem excessiva (Elek, 1956). Contudo, a flora residente da pele está melhor adaptada à pele em relação à utilização de nutrientes. Isto acarreta uma vantagem para a flora residente da pele (Larson, 2001). À parte disto, os organismos da flora residente da pele são capazes de produzir substâncias

antimicrobianas para lutarem contra os microorganismos patogênicos. Isto também é uma vantagem dos microorganismos residentes em relação aos nutrientes e às fontes de energia (Selwyn e Ellis, 1972; Milyani e Selwyn, 1978).

5 Além disso, substâncias que são secretadas pela pele, como lipídeos complexos (triglicerídeos), são degradadas em ácidos graxos insaturados que inibem microorganismos patogênicos como *Streptococcus pyrogenes* ou bactérias gram-negativas e fungos (Aly et al., 1972).

10 A flora microbiana da pele afeta vários fatores da pele que são de relevância cosmética. Estes são valor de pH da pele, função de barreira e teor de lipídeo. *S. epidermidis* é capaz de lutar contra microorganismos patogênicos pelo abaixamento do valor de pH (cerca de 4-6). Patógenos não são capazes de crescer em valores de pH decrescidos (Korting et al., 1990; Lukas, 1990; Korting, 1992; Yosipovitch e Maibach, 1996; Gfatter et al.,  
15 1997).

A função de barreira à água e o teor de lipídeo da pele dependem do teor de ceramida das camadas córneas (Imokawa et al., 1986). Diminuição do teor de ceramida causa uma secura e uma fissura da pele. Um estudo com pacientes com dermatite atópica tendo estas aparências da pele  
20 mostrou que a flora microbiana da pele muda dramaticamente para *Staphylococcus aureus*. Este patógeno caracteriza-se por uma atividade de ceramidase muito alta, enquanto que os microorganismos comensais normais da flora residente da pele não têm esta atividade. Atividades de esfingomielinase que causou a liberação de ceramidas na pele são  
25 comparáveis nas floras residente e patogênica de pacientes com dermatite atópica (Ohnishi et al., 1999). Normalmente, a flora bacteriana da pele de pacientes com dermatite atópica (AD) é diferente daquela em pessoas saudáveis. Tais pacientes muitas vezes sofrem de infecções microbianas tais como impetigo, foliculite, ou furunculose. A flora microbiana de pacientes

com dermatite atópica mostra diferenças surpreendentes em termos da presença de *S. aureus* e *S. epidermidis*. A raridade relativa de colonização por *S. aureus* sobre sítios de pele normal está em contraste marcante com a taxa de carreto alta encontrada em pacientes com dermatite atópica variando de 5 75% sobre áreas não afetadas a até 99% sobre lesões exsudativas, agudas. Este aumento forte de colonização de *S. aureus* sobre a pele é acompanhado com um decréscimo do número de microorganismos comensais da flora residente da pele, especialmente *S. epidermidis*.

Assim, há uma necessidade de composições, kits e usos para 10 proteger a pele, em particular a pele humana, contra microorganismos patogênicos e para tratar doenças de pele tal como dermatite atópica.

A presente invenção atende a esta necessidade e proporciona 15 composições, kits e usos que protegem a pele contra a colonização por microorganismos patogênicos. Em particular, ela proporciona as modalidades como caracterizadas nas reivindicações. O tema da presente invenção é, e.g., útil no tratamento de doenças de pele pelo reequilíbrio a microflora da pela.

Conseqüentemente, a presente invenção refere-se às composições e aos kits compreendendo:

(i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento 20 de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e

(ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de 25 um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele.

A presente invenção também se refere aos usos dos microorganismos acima mencionados.

Os inventores surpreendentemente verificaram que uma proteção eficaz da pele contra uma colonização por microorganismos

patogênicos pode ser realizada pela administração à pele das composições ou kits descritos acima ou pela aplicação dos usos correspondentes. As composições, kits e usos da invenção compreendem ou referem-se a uma combinação de dois tipos diferentes de microorganismos, (i) microorganismos que são capazes de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente (aqui abaixo descrito como aspecto (i) da invenção), e (ii) microorganismos que são capazes de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele (aqui abaixo descrito como aspecto (ii) da invenção). Os inventores surpreendentemente verificaram que proteção da pele contra uma colonização por microorganismos patogênicos pode ser realizada pela administração ou pelo uso de uma combinação de microorganismos. Os inventores adicionalmente verificaram que pela administração ou pelo uso de uma tal combinação de microorganismos a microflora da pele pode ser re-equilibrada, em particular dentro de uma escala de tempo curta.

Os microorganismos de aspecto (i), como descritos aqui acima, i.e. aqueles, que são capazes de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele, são capazes de regenerar e estabilizar a flora natural da pele devido a uma estimulação específica do crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele. Por meio isto, o crescimento de microorganismos patogênicos é suprimido. Ademais, a entrada de microorganismos patogênicos na flora microbiana da pele pode ser prevenida. Este microorganismo da presente invenção permite, e.g., estimulação da flora microbiana residente em camadas córneas mais profundas da pele quando microorganismos nas camadas superiores da pele têm sido removidos por lavagem.

Os microorganismos de aspecto (ii) como descritos aqui acima, i.e. aqueles que são capazes de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele, são capazes de diferentemente suprimir o crescimento de microorganismos sobre a pele, i.e. seletivamente inibem o crescimento de microorganismos patogênicos, mas não influenciam o crescimento dos habitantes da microflora comensal saudável. Deste modo estes microorganismos são capazes de regenerar e estabilizar a flora natural da pele.

Muitos microorganismos diferentes existem sobre a pele. Alguns pertencem à flora normal (residente) da pele e são microorganismos comensais inofensivos e alguns são patógenos potenciais.

Basicamente, organismos sobre a pele podem ser classificados em duas categorias: 1. Organismos residentes: organismos residentes são habitantes permanentes da pele que colonizam sobre a superfície da pele, o estrato córneo e dentro da camada externa da epiderme e as fendas mais profundas da pele e folículos pilosos. Estes microorganismos da flora microbiana residente da pele podem crescer e se multiplicar sobre a pele sem invadir ou danificar o tecido da pele. Lavagem não remove facilmente estes organismos nas regiões mais profundas da pele. Microorganismos residentes são microorganismos comensais inofensivos.

2. Organismos transientes: organismos transientes são microorganismos que são depositados sobre a pele mas não se multiplicam lá ou contaminantes que se multiplicam sobre a pele e persistem por períodos curtos. Não podem se estabelecer permanentemente sobre pele saudável cujo microambiente é pesadamente determinado pela microflora residente. Organismos transientes são potencialmente patogênicos.

Assim, o termo "flora microbiana residente da pele" refere-se aos microorganismos que podem normalmente ser encontrados sobre pele saudável, preferivelmente pele de humano, e que constituem a maioria dos

microorganismos encontrados sobre a pele.

Em particular, o termo “flora microbiana residente da pele” refere-se aos microorganismos que são habitantes permanentes sobre a superfície da pele, o estrato córneo e dentro da camada externa da epiderme e as fendas mais profundas da pele e folículos pilosos. Estes microorganismos são caracterizados pelo fato de que podem crescer e se multiplicar sobre a pele sem invadir ou danificar o tecido da pele. Uma característica destes microorganismos é que lavagem não os remove facilmente em regiões mais profundas da pele. Os microorganismos da flora microbiana residente da pele são microorganismos comensais inofensivos.

O termo "flora microbiana residente da pele" preferivelmente refere-se a uma flora de microorganismos aeróbicos e anaeróbicos que podem ser encontrados sobre a pele, preferivelmente a pele humana. Mais preferivelmente, refere-se a uma flora de microorganismos que compreende *Staphylococcus epidermidis* (coagulase negativo), *Micrococcus spec.*, Difteróides e propionibactérias. Tipicamente, cerca de 90 % da flora microbiana aeróbica residente da pele consiste de *Staphylococcus epidermidis*. O restante cerca de 10 % é composto de principalmente *Micrococcus spec.* (80% *Micrococcus luteus*) e Difteróides (13%). O termo “Difteróide” denota uma ampla variedade de bactérias pertencendo ao gênero *Corynebacterium*. Por conveniência, difteróides cutâneos têm sido categorizados nos seguintes quatro grupos: difteróides lipofílicos ou não-lipofílicos; difteróides anaeróbicos; difteróides produtores de porfirinas. Representantes maiores (90%) da flora microbiana anaeróbica da pele são propionibactérias; especialmente *Propionibacterium acnes*, *P. granulosum* e *P. avidum* podem ser isoladas da pele. A flora anaeróbica totaliza aproximadamente 4% da flora residente total da pele.

Mais preferivelmente, mais do que 90% dos microorganismos da flora microbiana pertencem a *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus*

spec., Difteróides e propionibactérias. Ainda mais preferivelmente, a flora microbiana residente da pele é caracterizada pelo fato de que seu constituinte maior é *Staphylococcus epidermidis*.

Os constituintes e a composição da flora microbiana da pele podem ser determinados quantitativa e qualitativamente, e.g. pela remoção das camadas superiores da pele com fita scotch. Microorganismos da flora microbiana residente da pele podem ser identificados dentro das dez camadas superiores da pele removidas, e.g., por fita scotch. Como exemplo, para isolar estes microorganismos seis fitas scotch de 2 cm<sup>2</sup> são prensadas, cada uma, sobre uma região definida da pele, preferivelmente do antebraço e depois cada tira de fita é transferida da pele para uma placa de ágar de cultura seletiva quer para bactérias gram-positivas (e.g. BHI, Difco Inc.) quer para bactérias gram-negativas (e.g. ágar MacConkey, Difco Inc.) ou para um ágar de cultura seletiva para leveduras e fungos (e.g. Plate Count Agar, Difco Inc.). Depois os microorganismos que têm sido transferidos da pele para as placas de ágar de cultura são cultivados a 30°C e 37°C, aeróbica e anaerobicamente por cerca de 24 horas. Unidades de formação de colônia são determinadas por métodos morfológicos e bioquímicos para uma análise qualitativa e por contagem para quantificação. A composição relativa e as contagens de células totais são determinadas. A pessoa experiente na técnica pode determinar o gênero e/ou a espécie dos microorganismos da flora microbiana residente da pele, que têm sido isolados como descrito acima por métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, a pessoa experiente na técnica pode identificar ditos microorganismos devido à pegada metabólica, composição de ácido graxo e composição da parede celular etc.

O termo “pele” refere-se à cobertura externa do corpo, como conhecida pela pessoa experiente na técnica. Preferivelmente o termo refere-se a três camadas: epiderme, derme, e tecido adiposo subcutâneo. A epiderme é a camada mais externa da pele. Ela tipicamente forma a capa protetora, à

prova de água, sobre a superfície do corpo e é composta de epitélio escamoso estratificado com uma lâmina basal subjacente. Normalmente não contém vasos sanguíneos, e é nutrida pela difusão da derme. O tipo principal de células que compõem a epiderme são queratinócitos, com melanócitos e células de Langerhans também presentes. A epiderme está dividida em várias camadas onde células são formadas através de mitose nas camadas mais internas. Elas se movem para acima dos estratos mudando a forma e a composição à medida que se diferenciam e se tornam cheias de queratina. Eventualmente alcançam a camada de topo chamada de estrato córneo e se tornam descascadas, ou descamadas. A camada mais externa da epiderme consiste de 25 a 30 camadas de células mortas. Convencionalmente, a epiderme está dividida em 5 subcamadas ou estratos (da superficial para profunda): o estrato córneo, o estrato lucídio, o estrato granuloso, o estrato espinhoso e o estrato germinativo ou estrato basal. Tipicamente, a interface entre a epiderme e a derme é irregular e consiste de uma sucessão de papilas, ou projeções semelhantes a dedo, que são menores quando a pele é fina e mais longas na pele das palmas e das solas. Tipicamente, as papilas da palmas e das solas estão associadas com elevações da epiderme, que produzem cumes. Tecido adiposo subcutâneo é a camada mais profunda da pele. Uma característica desta camada é que ela é composta de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos, e células adiposas. . Tipicamente, esta camada liga a pele em estruturas subjacentes, isola o corpo do frio, e armazena energia na forma de gordura. Em geral a pele forma uma barreira protetora contra a ação de agentes físicos, químicos, e bacterianos sobre os tecidos mais profundos. Isto significa que os tecidos pertencendo, e.g. à cavidade oral ou à região vaginal ou às membranas mucosas não pertencem à pele. Em uma modalidade preferida o termo “pele” refere-se à camada mais externa da cobertura do corpo, i.e. a epiderme. Em uma modalidade mais preferida o termo “pele” refere-se ao estrato córneo da epiderme. Em uma modalidade ainda mais

preferida o termo pele refere-se às 25 a 30 camadas mais externas de células mortas da epiderme. Na modalidade muito mais preferida o termo “pele” refere-se às 10 camadas mais externas de células mortas da epiderme.

5 O termo "estimula" em conexão com o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele, preferivelmente em conexão com o aspecto (i) como descrito aqui acima, significa que o crescimento de um ou mais dos microorganismos é aumentado quando contatado com um microorganismo de acordo com a invenção. Um crescimento aumentado significa preferivelmente um aumento em  
10 proliferação, i.e. divisões celulares por unidade de tempo. Alternativamente, o termo “estimula” também se refere a um aumento em tamanho de células individuais. Tamanho de célula bacteriana pode ser avaliado por citometria de fluxo (e.g. citômetro de fluxo Becton-Dickinson FACSort, San José, CA) após coloração com o corante SYBR Green I (Molecular Probes, USA). O  
15 tamanho de célula bacteriana é avaliado no modo Side-Angle Light Scatter (SSC).

Um crescimento aumentado desta maneira significa um aumento em produção de biomassa por unidade de tempo.

20 A estimulação de crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele pode ser preferivelmente observada in vitro, mais preferivelmente em um ensaio no qual um microorganismo de acordo com a invenção é contatado com um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e o crescimento do(s) (deste(s)) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele é determinado. O  
25 crescimento pode ser determinado por contagem dos números de células/colônias após intervalos de tempo diferentes de incubação e podem ser comparados com um controle que não contém um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, permitindo deste modo a determinação de se há um aumento em crescimento.

Um ensaio in vitro para determinar a estimulação de crescimento é descrito nos Exemplos e compreende um denominado "ensaio em placa de orifício in vitro". Em resumo, um tal ensaio compreende as seguintes etapas de:

- 5                   - cultivo de pelo menos um microorganismo da flora microbiana residente da pele e espalhamento uniforme dele/deles sobre uma placa de ágar preparada contendo um meio de ágar adequado para crescimento, e preferivelmente detecção, do(s) microorganismo(s) respectivo(s);
- 10                 - perfuração de orifícios na placa de ágar inoculada;
- enchimento dos orifícios com células pré-cultivadas de um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima;
- incubação das placas de ágar por uma quantidade de
- 15                 tempo apropriada e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele; e
- determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele circundando os orifícios contendo um microorganismo de acordo com a invenção e comparação dele com o
- 20                 crescimento do(s) microorganismo(s) circundando um orifício que não contém um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima.

A determinação do crescimento na última etapa pode ser realizada por meios e métodos disponíveis para determinar o número de

25                 células e/ou colônias, e.g. por coloração com um corante apropriado e/ou meio óptico tal como densitometria e contagem das células/colônias sob o microscópio.

Ainda mais preferivelmente, a estimulação do crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele também pode

ser observada em um ensaio de pele in situ. Tal ensaio é descrito nos Exemplos e, em resumo, compreende as seguintes etapas de:

- 5                   - cultivo de pelo menos um microorganismo da flora microbiana residente da pele e espalhamento uniforme dele sobre uma área da pele de um indivíduo de teste;
- aplicação de uma alíquota de um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, em uma área pontual dentro da área sobre a qual o(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele tem/têm sido espalhado(s);
- 10                  - incubação da pele por uma quantidade de tempo suficiente para permitir o crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele;
- transferência das camadas de pele superiores, incluindo os microorganismos compreendidos nestas, para uma placa de ágar contendo um
- 15                  meio de crescimento apropriado;
- incubação das placas de ágar por um período de tempo e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele;
- determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da
- 20                  flora microbiana residente da pele circundando a área na qual o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, foi aplicado e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) em um controle no qual nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, foi aplicado.
- 25                  A área da pele usada para este ensaio pode ser qualquer área de pele adequada de um indivíduo, preferivelmente um indivíduo humano. Em uma modalidade preferida é uma área de pele sobre o antebraço de um indivíduo humano. O tamanho da área não é decisivo, preferivelmente é cerca de 1 a 40 cm<sup>2</sup>, mais precisamente 5 a 20 cm<sup>2</sup>, ainda mais precisamente 5 a 10

cm<sup>2</sup>, e.g. cerca de 5,6, 7, 8, 9 ou 10 cm<sup>2</sup>.

O(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele é(são) uniformemente distribuído(s) sobre a área, preferivelmente em uma densidade de aproximadamente 10<sup>2</sup> cfu/cm<sup>2</sup> – 10<sup>3</sup> cfu/cm<sup>2</sup>. O(s) microorganismo(s) espalhado(s) sobre a pele são secos com ar e uma alíquota de um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, é aplicada em uma maneira pontual dentro da área. Isto pode ser realizado por meio conhecido pela pessoa experiente na técnica. Por exemplo, os microorganismos de acordo com a invenção são centrifugados (15 min, 4000 x g). A pelota de células é lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células são ressuspensas em 200 µL de tampão K/Na e 10 µL de microorganismos preparados são pontualmente aplicados na área de pele pré-inoculada com uma micropipeta.

A incubação da pele preferivelmente ocorre na temperatura ambiente por, e.g., duas horas. A transferência das camadas de pele superiores, incluindo os microorganismos compreendidos nas mesmas, pode, e.g., ser realizada com a ajuda de uma tira de fita adesiva. As placas de ágar nas quais as camadas de pele superiores têm sido transferidas são incubadas em uma temperatura permitindo crescimento do(s) microorganismo(s) ou da flora microbiana residente da pele a ser testada e contêm um meio de crescimento conhecido em suportar o crescimento deste(s) microorganismo(s). A incubação tipicamente ocorre por cerca de 24 horas.

O crescimento do(s) microorganismo(s) pode ser detectado por métodos conhecidos pela pessoa experiente na técnica. Preferivelmente, é determinado por densitometria ou pro contagem das colônias formadas na vizinhança do ponto no qual uma alíquota do microorganismo da invenção foi aplicada. Tamanho de célula bacteriana pode ser avaliado por citometria de fluxo (e.g. citômetro de fluxo Becton-Dickinson FACSort, San José, CA) após coloração com o corante SYBR Green I (Molecular Probes, USA).

Tamanho de célula de bactéria é avaliado no modo Side-Angle Light Scatter (SSC).

Um microorganismo é considerado em estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele se ele acarreta um aumento do crescimento de pelo menos um tal microorganismo em um ensaio em placa de orifício in vitro de pelo menos 5 %, preferivelmente de pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, ou 70%, mais precisamente de pelo menos 75% e ainda mais precisamente de pelo menos 80% e muito mais preferivelmente de pelo menos 85% em comparação com um controle no qual não tem sido adicionado microorganismo.

Mais precisamente, um microorganismo é considerado como estimulante do crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele se ele causa um aumento do crescimento de pelo menos um tal microorganismo em um ensaio in situ em pele de pelo menos 5%, preferivelmente de pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, ou 70%, mais precisamente de pelo menos 75%, ainda mais precisamente de pelo menos 80% e muito mais preferivelmente de pelo menos 85%.

Em uma modalidade preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, estimula o crescimento do representante maior da flora residual da pele, i.e. *Staphylococcus epidermidis*. O significado da palavra "estimula o crescimento" é como descrito aqui acima e preferivelmente significa uma estimulação in vitro, mais precisamente em um ensaio em placa de orifício in vitro como descrito aqui acima. Ainda mais precisamente significa um estímulo em um ensaio de pele in situ como descrito aqui acima. Muito mais preferivelmente significa uma estimulação em um ensaio tanto in vitro quanto in situ. O ensaio em placa de orifício in vitro e o ensaio de pele in situ são preferivelmente realizados como descrito nos Exemplos. Em uma modalidade preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como

descrito aqui acima, também estimula o crescimento de *Micrococcus* spec., preferivelmente de *Micrococcus luteus*. Em uma modalidade mais preferida, também o crescimento de Difteróides, preferivelmente de bactérias pertencendo ao gênero *Corynebacterium* é estimulado.

5                   Em uma modalidade particularmente preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, estimula o crescimento de todos os microorganismos da flora microbiana residente da pele.

10                   O microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, também é caracterizado pelo fato de que ele não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente. O termo "microflora patogênica transiente" refere-se aos microorganismos que são depositados sobre a pele mas não se multiplicam nela ou aos contaminantes que se multiplicam sobre a pele em persistem por

15                   períodos curtos. Em particular, se um microorganismo é aplicado na pele e é incapaz de crescer e se reproduzir nela sob as condições ambientais proporcionadas pela pele saudável e não pode permanentemente colonizar este órgão (ou uma região dele), ele é considerado em pertencer à microflora patogênica transiente. Várias bactérias, leveduras e fungos podem ser

20                   transientemente isolados da pele humana mas particularmente os seguintes microorganismos podem ser classificados como microflora transiente devido ao seu aparecimento freqüente: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, bacilos gram-negativos (e.g *Acinetobacter calcoaceticus*), *Candida albicans* e *Malassezia furfur*. Microorganismos da microflora transiente

25                   muitas vezes têm fatores patogênicos que permitem que a bactéria se fixe em regiões desordenadas da pele. Este pode ser e.g. a fixação em estruturas de colágeno ou estruturas de queratina.

Os microorganismos da microflora patogênica transiente podem ser determinados, e.g., por pegada metabólica, por avaliação de

composição de ácido graxo e da composição da parede celular, por seqüenciamento de RNA ribossomal 16S ou por detecção de sondas de DNA específicas codificadoras de fatores patogênicos específicos.

O termo "não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente" significa que o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, não estimula o crescimento de pelo menos um, preferivelmente de mais do que um, preferivelmente de mais do que dois, mais precisamente de mais do que cinco e particularmente preferido de qualquer um dos microorganismos da flora patogênica transiente.

Um microorganismo é considerado como não estimulante do crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente se ele não causa um crescimento aumentado de um tal microorganismo da microflora patogênica transiente quando contatado com ele. A estimulação do crescimento ou sua ausência pode ser testado in vitro ou in situ como descrito acima em conexão com a propriedade de um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, para estimular o crescimento de pelo menos um microorganismo da flora microbiana residente da pele. Muito mais preferivelmente o teste para determinar a estimulação ou sua ausência ocorre pela realização de um ensaio em placa de orifício in vitro e/ou um ensaio de pele in situ como descrito acima, mais precisamente como descrito nos Exemplos. Um microorganismo é considerado como não estimulante do crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente se o crescimento do último microorganismo não é aumentado ou apenas ligeiramente aumentado quando contatado com o primeiro microorganismo. "Ligeiramente aumentado" significa que o crescimento é aumentado não mais do que em 5% quando comparado com o controle, mais precisamente não mais do que 2% quando comparado com o controle. O termo "não aumentado" significa que não pode ser encontrada qualquer

diferença estatisticamente relevante entre o crescimento do microorganismo da microflora patogênica transiente contado com um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, quando comparado com o controle onde nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, está presente.

Em outra modalidade preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, não influencia negativamente o crescimento dos microorganismos da microflora patogênica transiente. O termo “não influencia negativamente” significa que não pode ser encontrada inibição do crescimento do microorganismo da microflora patogênica transiente contatado com um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, quando comparado com o controle onde nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, está presente.

Em uma outra modalidade preferida, o microorganismo de aspecto (i) da presente invenção, como descrito aqui acima, não estimula o crescimento do representante maior da microflora patogênica transiente, i.e. *Staphylococcus aureus*. O teste para determinar se um microorganismo estimula ou não o crescimento de *Staphylococcus aureus* é preferivelmente um teste in vitro e/ou in situ como descrito aqui acima, mais precisamente um teste como descrito nos Exemplos.

Um microorganismo em conexão com o aspecto (ii) como descrito aqui acima, i.e. um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele, é considerado como inibidor do crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele, se ele causa uma diminuição do crescimento de um tal microorganismo da microflora patogênica transiente da pele quando contatado com ele. O termo "inibe o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente da pele"

significa que o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, diminui o crescimento de pelo menos um, preferivelmente de mais do que um, preferivelmente de mais do que dois, mais precisamente de mais do que cinco e particularmente preferido de qualquer um dos microorganismos da flora patogênica transiente. Em uma outra modalidade preferida, o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, inibe o crescimento do representante maior da microflora patogênica transiente da pele, i.e. *Staphylococcus aureus*. Em uma outra modalidade preferida, o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, especificamente inibe o crescimento de *Staphylococcus aureus*. “Especificamente” preferivelmente significa que ele inibe o crescimento de *Staphylococcus aureus*, mas não significativamente ou apenas em um grau menor inibe o crescimento dos outros microorganismos, em particular daqueles microorganismos que pertencem à microflora residente da pele. Mais precisamente, o termo “especificamente” significa que o grau de inibição sobre *Staphylococcus* é muito maior do que o grau de inibição sobre outro microorganismo, em particular um microorganismo da microflora residente da pele. Particularmente preferido, o termo “especificamente” significa que em um ensaio de crescimento adequado conhecido pela pessoa experiente na técnica a proliferação de *Staphylococcus aureus* na presença do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, é no máximo 50% da proliferação de outro microorganismo, em particular outro microorganismo da microflora residente da pele na presença do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima. Preferivelmente, a proliferação de *Staphylococcus aureus* é 40%, 30%, 20%, 10%, mais precisamente 5% e muito mais preferivelmente 0% da proliferação de outro microorganismo, em particular outro microorganismo da microflora residente da pele, na presença de um microorganismo de acordo

com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima. A inibição específica de *Staphylococcus aureus* é indicada em Exemplos 10 e 11, que mostram por meio de ilustração que *Micrococcus luteus* e *Escherichia coli* não são inibidos por um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, em um ensaio líquido in vitro. Em uma modalidade preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, inibe o crescimento de *Staphylococcus aureus* mas não inibe o crescimento de *Micrococcus luteus* e/ou *Escherichia coli*.

10 Em uma modalidade particularmente preferida a inibição específica de *Staphylococcus aureus* pode ser detectada quando são usadas condições de cultura que incluem glicerol.

Um crescimento diminuído significa preferivelmente um decréscimo em proliferação, i.e. em divisões de célula por unidade Alternativamente, o termo “inibe” também se refere a uma diminuição em tamanho de células individuais. Tamanho de célula bacteriana pode ser avaliado por citometria de fluxo (e.g. citômetro de fluxo Becton-Dickinson FACSsort, San José, CA) após coloração com o corante SYBR Green I (Molecular Probes, USA). Tamanho de célula bacteriana é avaliado no modo Side-Angle Light Scatter (SSC).

20 Um crescimento diminuído desta maneira significa uma diminuição em biomassa por unidade de tempo.

A inibição de crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele pode ser observado preferivelmente in vitro, mais precisamente em um ensaio no qual um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, é contatado com um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e o crescimento deste(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele é determinado. O crescimento pode ser determinado por

contagem dos números de células/colônias após intervalos de tempo diferentes de incubação e pode ser comparado com um controle que não contém um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, permitindo deste modo determinar se há um aumento ou  
5 uma diminuição em crescimento.

Um ensaio *in vitro* para determinar a inibição de crescimento é descrito nos Exemplos e compreende um denominado "ensaio em placa de orifício *in vitro*". Em resumo, um tal ensaio compreende as seguintes etapas de:

- 10 - cultivo de pelo menos um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele e espalhamento uniforme dele(s) sobre uma placa de ágar preparada contendo um meio de ágar adequado para crescimento, e preferivelmente detecção, do(s) respectivo(s) microorganismo(s);
- 15 - perfuração de orifícios na placa de ágar inoculada;
- enchimento dos orifícios com células pré-cultivadas de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima;
- 20 - incubação das placas de ágar por uma quantidade de tempo apropriada e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele; e
- determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele circundando os orifícios contendo um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) circundando um orifício que não contém um microorganismo de acordo com  
25 o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima.

A determinação do crescimento na última etapa pode ser realizada por meios e métodos disponíveis para determinar o número de

células/colônias, e.g. por coloração com um corante apropriado e/ou meio óptico tal como densitometria e contagem das células/colônias sob o microscópio. Em uma modalidade preferida o diâmetro da zona de clareira ocorrente próxima ao orifício pode ser usado para determinar a área de inibição.

Mais precisamente, a inibição do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele pode se determinada em um "ensaio líquido in vitro". Um tal ensaio é descrito nos Exemplos e, resumidamente, compreende as seguintes etapas de:

- 10 - cultivo de pelo menos um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele em uma cultura líquida;
- aplicação de uma alíquota de uma cultura líquida do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e uma alíquota de uma cultura líquida do microorganismo da microflora patogênica transiente da pele em um meio de cultura permissor do crescimento do microorganismo da microflora patogênica transiente da pele;
- 15 - co-cultivo do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e do microorganismo da microflora patogênica transiente da pele em uma cultura líquida;
- 20 - transferência de uma alíquota da cultura líquida de co-cultivo para uma placa de ágar, contendo um meio de crescimento apropriado;
- incubação das placas de ágar por um período de tempo e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele;
- 25 - determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele por quantificação das unidades de formação de colônia e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) em um controle no qual nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, foi

aplicado.

Ainda mais precisamente, a inibição do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele também pode ser observada em um “ensaio de pele in situ”. Um tal ensaio é descrito nos Exemplos e, em resumo, compreende as seguintes etapas de:

- cultivo de pelo menos um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele e espalhamento uniforme dele sobre uma área da pele de um indivíduo de teste;
- aplicação de uma alíquota de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, em uma área pontual dentro da área sobre a qual o(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele tem/têm sido espalhado(s);
- incubação da pele por uma quantidade de tempo suficiente para permitir o crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele;
- transferência das camadas de pele superiores, incluindo os microorganismos compreendidos nestas, para uma placa de ágar contendo um meio de crescimento apropriado;
- incubação das placas de ágar por um período de tempo e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele;
- determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele circundando a área na qual o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, foi aplicado e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) em um controle no qual nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, foi aplicado.

A área de pele usada para este ensaio pode ser qualquer área

de pele adequada de um indivíduo, preferivelmente de um indivíduo humano. Em uma modalidade preferida é uma área de pele do antebraço de um indivíduo humano. O tamanho da área não é decisivo, preferivelmente ela é cerca de 1 a 40 cm<sup>2</sup>, mais precisamente 5 a 20 cm<sup>2</sup>, ainda mais precisamente 5 a 10 cm<sup>2</sup>, e.g. cerca de 5,6, 7, 8, 9 ou 10 cm<sup>2</sup>.

O(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele estão uniformemente distribuídos sobre a área, preferivelmente em uma densidade de aproximadamente 10<sup>2</sup> cfu/cm<sup>2</sup> – 10<sup>3</sup> cfu/cm<sup>2</sup>. O(s) microorganismo(s) espalhados sobre a pele são secos em ar e uma alíquota de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, é aplicada em uma maneira pontual dentro da área. Isto pode ser realizado por meios conhecidos pela pessoa experiente na técnica. Por exemplo, os microorganismos de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, são centrifugados (15 min, 4000 x g). A pelota de células é lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células são ressuspensas em 200 µL de tampão K/Na e 10 µL de microorganismos preparados são pontualmente aplicados sobre a área de pele pré-inoculada com uma micropipeta.

A incubação da pele preferivelmente ocorre na temperatura ambiente por, e.g., duas horas. A transferência das camadas de pele interiores, incluindo os microorganismos compreendidos nelas, pode, e.g., ser realizada com a ajuda de uma tira de fita adesiva. As placas de ágar nas quais as camadas de pele superiores têm sido transferidas são incubadas em uma temperatura permissora do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele a serem testados e contêm um meio de crescimento conhecido em suportar o crescimento deste(s) microorganismo(s). A incubação tipicamente ocorre por cerca de 24 horas.

O crescimento do(s) microorganismo(s) pode ser detectado por métodos conhecidos pela pessoa experiente na técnica. Preferivelmente, é

determinado por densitometria ou por contagem das colônias formadas na vizinhança do ponto no qual uma alíquota do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, foi aplicada. Tamanho de célula bacteriana pode ser avaliado por citometria de fluxo (e.g. citômetro de fluxo Becton-Dickinson FACSort, San José, CA) após coloração com o corante SYBR Green I (Molecular Probes, USA). Tamanho de célula bacteriana é avaliado no modo Side-Angle Light Scatter (SSC).

Um microorganismo é considerado inibidor do crescimento de um ou mais microorganismos da microflora transiente patogênica se ele causa uma diminuição de crescimento de pelo menos um tal microorganismo em um “ensaio em placa de orifício in vitro” de pelo menos 5%, preferivelmente de pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, ou 70%, 80%, mais precisamente de pelo menos 90% e ainda mais precisamente de pelo menos 95% e muito mais preferivelmente de pelo menos 99% em comparação com um controle no qual não tem sido adicionado microorganismo.

Mais precisamente, um microorganismo é considerado inibidor do crescimento de um ou mais microorganismos da microflora transiente patogênica se ele causa diminuição de crescimento de pelo menos um tal microorganismo em um “ensaio líquido in vitro” de pelo menos 5%, preferivelmente de pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, ou 70%, 80%, mais precisamente de pelo menos 90% e ainda mais precisamente de pelo menos 95% e muito mais preferivelmente de pelo menos 99% em comparação com um controle no qual não tem sido adicionado microorganismo.

Muito mais preferivelmente, um microorganismo é considerado inibidor do crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele se ele causa uma diminuição de crescimento de pelo menos um tal microorganismo em um ensaio de pele in situ de pelo menos 5%, preferivelmente de pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%,

50%, 60%, ou 70%, 80%, mais precisamente de pelo menos 90%, ainda mais precisamente de pelo menos 95% e muito mais preferivelmente de pelo menos 99%.

5 O teste para determinar se um microorganismo inibe ou não o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele, e.g. *Staphylococcus aureus*, é preferivelmente um teste in vitro e/ou in situ como descrito aqui acima, mais precisamente um teste como descrito nos Exemplos.

10 Em uma modalidade preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, causa uma inibição do crescimento de um ou mais microorganismos da microflora transiente patogênica, preferivelmente *Staphylococcus aureus*, que é comparável com a inibição de crescimento de pelo menos um tal microorganismo após o uso de um antibiótico. O termo "comparável" significa que a atividade inibitória de  
15 uma quantidade específica do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, está dentro da mesma faixa que a atividade de um antibiótico. Em particular, este efeito pode ser alcançado pelo uso preferivelmente de uma quantidade de entre  $1,0 \times 10^8$  e  $3,0 \times 10^9$  células, mais precisamente entre  $2,0 \times 10^8$  e  $1,0 \times 10^9$  células, ainda mais  
20 precisamente entre  $3,0 \times 10^8$  e  $5,0 \times 10^8$  células e muito mais preferivelmente a  $3,4 \times 10^8$  células e a atividade inibitória alcançada por esta quantidade de células corresponde preferivelmente a de 5 a 15 unidades de um antibiótico. O termo "antibiótico" refere-se a uma substância química, que tem a capacidade de inibir o crescimento ou de matar microorganismos. Tais substâncias são  
25 conhecidas pela pessoa experiente na técnica. Preferivelmente, o termo refere-se aos compostos de beta-lactama como penicilinas, cefalosporinas ou carbapenemos; macrolidas; tetraciclina; fluoroquinolonas; sulfonamidas; aminoglicosídeos; imidazóis; peptido-antibióticos e lincosamidas. Mais precisamente, o termo refere-se à bacitracina e à eritromicina. Em uma

modalidade preferida o termo “comparável” significa que a atividade inibitória de cerca de  $3,4 \times 10^8$  células de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, corresponde a cerca de 150  $\mu\text{g}$  de bacitracina ou cerca de 2,5  $\mu\text{g}$  de eritromicina. Muito mais preferivelmente o termo “comparável” refere-se à atividade inibitória de cerca de  $3,4 \times 10^8$  células de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, corresponde a cerca de 150  $\mu\text{g}$  de bacitracina ou cerca de 2,5  $\mu\text{g}$  de eritromicina sobre *Staphylococcus aureus* como uma cepa indicadora, como ilustrado em Exemplo 12.

10 O termo “microorganismos da microflora transiente patogênica” tem sido descrito aqui acima. Preferivelmente, o termo refere-se a *Staphylococcus aureus*.

O grau de inibição do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele em comparação com o grau de inibição de pelo menos um tal microorganismo após o uso de um antibiótico pode ser preferivelmente observado in vitro, mais precisamente em um ensaio no qual um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, é contatado com um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e o crescimento deste(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele é determinado. Muito mais preferivelmente, a comparação de inibição de crescimento pode ser determinada em um “ensaio em placa de orifício in vitro” como descrito nos Exemplos e mencionado aqui acima. Em resumo, uma tal comparação em um “ensaio em placa de orifício in vitro” compreende as seguintes etapas de

25 - cultivo de pelo menos um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele e espalhamento uniforme dele(s) sobre uma placa de ágar preparada contendo um meio de ágar adequado para crescimento, e preferivelmente detecção, do(s) respectivo(s) microorganismo(s);

- perfuração de orifícios na placa de ágar inoculada;
- enchimento de alguns dos orifícios com células pré-cultivadas de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e enchimento de alguns dos orifícios com um antibiótico em concentrações diferentes;
- 5                   - incubação das placas de ágar por uma quantidade de tempo apropriada e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele;
- 10                   - determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora patogênica transiente da pele circundando os orifícios contendo um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) circundando um orifício que contém um antibiótico em concentrações diferentes;
- 15                   - medição do diâmetro das zonas de inibição dos orifícios e cálculo da área de inibição; e
- correlação da inibição causada por um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e um antibiótico.

20                   Em uma modalidade preferida o termo “inibe o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente da pele” significa que a diminuição do crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente da pele é devido à liberação de substâncias antimicrobianas (defensivas). O termo “substância antimicrobiana” refere-se a uma substância

25                   que é capaz de mediar a inibição seletiva de crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente da pele. Preferivelmente a substância não é sensível contra digestão por protease. O termo “não sensível” significa que a substância não é ou é parcialmente afetada pela atividade de protease. O termo “protease” refere-se a qualquer enzima que catalisa a quebra de

ligações peptídicas internas em uma proteína, conhecida pela pessoa experiente na técnica. Em uma modalidade preferida o termo refere-se a uma proteinase K, uma protease de *Streptomyces griseus*, tripsina ou quimiotripsina. O termo “digestão por protease” refere-se a uma reação de protease sob condições conhecidas pela pessoa experiente na técnica. Em uma modalidade preferida o termo refere-se a uma incubação a 37°C, por exemplo por uma hora.

Em uma outra modalidade preferida o termo “substância antimicrobiana” refere-se a uma substância que é caracterizada por sua propriedade de não ser perturbada em valores de pH alto ou baixo. O termo “não ser perturbada por” significa que a substância é estável e biologicamente ativa. Os termos "valor de pH alto" e "valor de pH baixo" são conhecidos pela pessoa experiente na técnica. Preferivelmente, a propriedade de não ser perturbada está presente entre pH 3 e pH 11.

O termo "não inibe" em conexão com o crescimento de microorganismos da microflora residente da pele significa que o crescimento de pelo menos um, preferivelmente de mais do que um, preferivelmente de mais do que dois, mais precisamente de mais do que cinco e particularmente preferido de qualquer um dos microorganismos da microflora residente da pele não é alterado quando contatado com um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima. Um crescimento não alterado significa preferivelmente uma proliferação não modificada, i.e. divisões celulares por unidade de tempo.

Um microorganismo é considerado como não alterador do crescimento de um microorganismo da microflora residente da pele se ele não causa um crescimento diminuído de um tal microorganismo da microflora residente da pele quando contatado com ele. A inibição de crescimento ou sua ausência pode ser testada in vitro ou in situ como descrito acima em conexão com a propriedade de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da

invenção, como descrito aqui acima, para inibir o crescimento de pelo menos um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele. Muito mais preferivelmente o teste para determinar inibição ou sua ausência ocorre pela realização de um “ensaio em placa de orifício in vitro” e/ou “ensaio líquido in vitro” e/ou um “ensaio de pele in situ” com um microorganismo da microflora residente da pele como explicado aqui abaixo, mais precisamente como descrito nos Exemplos.

Em resumo, um "ensaio em placa de orifício in vitro" com um microorganismo da microflora residente da pele compreende as seguintes etapas de:

- cultivo de pelo menos um microorganismo da flora microbiana residente da pele e espalhamento uniforme dele(s) sobre uma placa de ágar preparada contendo um meio de ágar adequado para crescimento, e preferivelmente detecção, do(s) respectivo(s) microorganismo(s);
- perfuração de orifícios na placa de ágar inoculada;
- enchimento dos orifícios com células pré-cultivadas de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima;
- incubação das placas de ágar por uma quantidade de tempo apropriada e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele; e
- determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da flora microbiana residente da pele circundando os orifícios contendo um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) circundando um orifício que não contém um microorganismo de acordo com a invenção.

A determinação do crescimento na última etapa pode ser

realizada por meios e métodos disponíveis para determinar o número de células/colônias, e.g. por coloração com um corante apropriado e/ou meio óptico tal como densitometria e contagem das células/colônias sob o microscópio. Em uma modalidade preferida o diâmetro da zona de clareira  
5 ocorrente próxima ao orifício pode ser usado para determinar a área de inibição.

Um ensaio “ensaio líquido in vitro” com um microorganismo da microflora residente da pele é descrito nos Exemplos e, resumidamente, compreende as seguintes etapas de:

- 10                   - cultivo de pelo menos um microorganismo da microflora residente da pele em uma cultura líquida;
- aplicação de uma alíquota de uma cultura líquida do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e uma alíquota de uma cultura líquida do microorganismo da  
15 microflora residente da pele em um meio de cultura permissor do crescimento do microorganismo da microflora residente da pele;
- co-cultivo do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, e do microorganismo da microflora residente da pele em uma cultura líquida;
- 20                   - transferência de uma alíquota da cultura líquida de co-cultivo para uma placa de ágar, contendo um meio de crescimento apropriado;
- incubação das placas de ágar por um período de tempo e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora residente da pele;
- 25                   - determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora residente da pele por quantificação das unidades de formação de colônia e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) em um controle no qual nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, foi aplicado.

Em resumo, um "ensaio de pele in situ" com um microorganismo da microflora residente da pele compreende as seguintes etapas de:

- 5                   - cultivo de pelo menos um microorganismo da microflora residente da pele e espalhamento uniforme dele sobre uma área da pele de um indivíduo de teste;
- 10                  - aplicação de uma alíquota de um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, em uma área pontual dentro da área sobre a qual o(s) microorganismo(s) da microflora residente da pele tem/têm sido espalhado(s);
- incubação da pele por uma quantidade de tempo suficiente para permitir o crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora residente da pele;
- 15                  - transferência das camadas de pele superiores, incluindo os microorganismos compreendidos nestas, para uma placa de ágar contendo um meio de crescimento apropriado;
- incubação das placas de ágar por um período de tempo e sob condições permissoras do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora residente da pele;
- 20                  - determinação do crescimento do(s) microorganismo(s) da microflora residente da pele circundando a área na qual o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, foi aplicado e comparação dele com o crescimento do(s) microorganismo(s) em um controle no qual nenhum microorganismo da invenção foi aplicado.

25                  Um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, é considerado como não alterador do crescimento de um microorganismo da microflora residente da pele se o crescimento do último microorganismo não é diminuído ou apenas ligeiramente diminuído quando contatado com o primeiro microorganismo. "Ligeiramente diminuído"

significa que o crescimento é diminuído em não mais do que 5% quando comparado com o controle, mais precisamente em não mais do que 2% quando comparado com o controle. O termo "não diminuído" significa que não foi encontrada diferença estatisticamente relevante entre o crescimento do microorganismo da microflora residente da pele contatado com um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, quando comparado com o controle onde nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, está presente.

10                   Em outra modalidade preferida o microorganismo da presente invenção não influencia negativamente o crescimento dos microorganismos da microflora residente da pele. O termo "não influencia negativamente" significa que não é encontrada inibição do crescimento do microorganismo da microflora residente da pele contatado com um microorganismo da invenção quando comparado com o controle onde nenhum microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, está presente.

15                   Em uma modalidade particularmente preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (i) ou (ii) da presente invenção é um microorganismo pertencendo ao grupo das bactérias do ácido lático. O termo "microorganismo pertencendo ao grupo das bactérias do ácido lático" inclui (a) microorganismo(s) que pertence(m) às bactérias, em particular pertencendo às eubactérias fermentativas gram-positivas, mais particularmente pertencendo à família de lactobacteriaceae incluindo bactérias do ácido lático. Bactérias do ácido lático são a partir de um ponto de vista taxonômico divididas em subdivisões de Streptococcus, Leuconostoc, 20                   Pediococcus e Lactobacillus. O microorganismo da presente invenção é preferivelmente uma espécie Lactobacillus. Membros do grupo das bactérias do ácido lático normalmente são faltantes de porfirinas e citocromos, não realizam fosforilação e transporte de elétrons e como consequência obtêm

energia apenas por fosforilação em nível de substrato. I.e. em bactérias do ácido lático ATP é sintetizado através de fermentação de carboidratos. Todas as bactérias do ácido lático crescem anaerobicamente., contudo, diferentemente de muitos anaeróbios, as bactérias do ácido lático são em sua maioria não sensíveis ao oxigênio e assim podem crescer em sua presença bem como em sua ausência. Conseqüentemente, as bactérias da presente invenção são preferivelmente bactérias do ácido lático anaeróbicas aerotolerantes, preferivelmente pertencendo ao gênero de *Lactobacillus*.

As bactérias do ácido lático da presente invenção são preferivelmente esféricas ou bastonetes, variando de longas e finas a bastonetes curvos curtos, são além disso preferivelmente imóveis e/ou asporogênicas e produzem ácido lático como um produto único ou principal de metabolismo fermentativo. O gênero *Lactobacillus* ao qual o microorganismo da presente invenção pertence em uma modalidade preferida é dividido pelas seguintes características em três subgrupos maiores, com o qual é considerado que a espécie *Lactobacillus* da presente invenção pode pertencer a cada um de três subgrupos maiores:

- (a) lactobacilos homofermentativos
  - (i) produzindo ácido lático, preferivelmente o(s) L-, D- ou DL-isômero(s) de ácido lático em uma quantidade de pelo menos 85% a partir de glicose via a rota de Embden-Meyerhof;
  - (ii) crescendo em uma temperatura de 45°C, mas não em uma temperatura de 15°C;
  - (iii) sendo de forma de bastonete longo; e
  - (iv) tendo ácido glicérol teicóico na parede celular;
- (b) lactobacilos homofermentativos
  - (i) produzindo ácido lático, preferivelmente o(s) L- ou DL-isômero(s) de ácido lático via a rota de Embden-Meyerhof;
  - (ii) crescendo em uma temperatura de 15°C, mostrando

crescimento variável em uma temperatura de 45°C;

(iii) sendo de forma de bastonete curto ou corineforme; e

(iv) tendo ácido ribitol e/ou glicerol teicóico em sua parede celular;

5 (c) lactobacilos heterofermentativos

(i) produzindo ácido láctico, preferivelmente o DL-isômero de ácido láctico em uma quantidade de pelo menos 50% a partir de glicose via a rota de pentose-fosfato;

(ii) produzindo dióxido de carbono e etanol

10 (iii) mostrando crescimento variável em uma temperatura de 15°C ou 45°C;

(iv) sendo de forma de bastonete longo ou curto; e

(v) tendo ácido glicerol teicóico em sua parede celular.

Baseado nas características descritas acima, os  
15 microorganismos da presente invenção podem ser classificados como pertencendo ao grupo de bactérias do ácido láctico, particularmente ao gênero de *Lactobacillus*. Pelo uso de sistemática clássica, por exemplo, com referência às descrições pertinentes em "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (Williams & Wilkins Co., 1984), pode ser determinado que um  
20 microorganismo da presente invenção pertence ao gênero de *Lactobacillus*. Alternativamente, os microorganismos da presente invenção podem ser classificados como pertencendo ao gênero de *Lactobacillus* por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, por sua impressão digital metabólica i.e. uma visão geral comparável da capacidade do(s) microorganismo(s) da  
25 presente invenção em metabolizar açúcares ou por outros métodos descritos, por exemplo, em Schleifer et al., *System. Appl. Microb.*, 18 (1995), 461-467 ou Ludwig et al., *System. Appl. Microb.*, 15 (1992), 487-501. Os microorganismos da presente invenção são capazes de metabolizar fontes de açúcar, que são típicas e conhecidas na técnica para microorganismos

pertencendo ao gênero de *Lactobacillus*.

A associação dos microorganismos da presente invenção ao gênero de *Lactobacillus* também pode ser caracterizada pelo uso de outros métodos conhecidos na técnica, por exemplo, usando eletroforese em gel SDS-PAGE da proteína total da espécie a ser determinada e comparando-as com cepas conhecidas e já caracterizadas do gênero *Lactobacillus*. As técnicas para preparar um perfil de proteína total como descrito acima, bem como a análise numérica de tais perfis, são bem conhecidos por uma pessoa experiente na técnica. Contudo, os resultados são apenas confiáveis desde que cada estágio do processo esteja suficientemente padronizado. Deparado com a exigência de acuraria quando se determina a ligação de um microorganismo ao gênero de *Lactobacillus*, procedimentos padronizados são regularmente tornados disponíveis ao público por seus autores tal como aquele de Pot et al., como apresentado durante um "workshop" organizado pela European Union, na University of Ghent, em Bélgica, aos 12 a 16 de Setembro de 1994 (Técnicas de impressão digital para classificação e identificação de bactérias, SDS-PAGE de proteína de célula total). O programa de computador usado na técnica para analisar o gel de eletroforese SDS-PAGE é de importância crucial porque o grau de correlação entre as espécies depende dos parâmetros e algoritmos usados por este programa de computador. Sem entrar em detalhes teóricos, comparação quantitativa de bandas medidas por um densitômetro e normalizadas por um computador é preferivelmente feita com o coeficiente de correlação de Pearson. A matriz de similaridade assim obtida pode ser organizada com o auxílio do algoritmo UPGMA (método não-ponderada de grupo pareado usando ligação média) que não apenas torna possível agrupar juntos os perfis mais similares, mas também construir dendogramas (veja Kersters, "Numerical methods in the classification and identification of bacteria by electrophoresis, in Computer-assisted Bacterial Systematics", 337-368, M. Goodfellow, A. G. O'Donnell Ed., John Wiley e

Sons Ltd, 1985).

Alternativamente, a associação de ditos microorganismos da presente invenção ao gênero de *Lactobacillus* pode ser caracterizada com relação ao RNA ribossomal em um denominado Riboprinter.RTM. Mais precisamente, a associação das espécies recém identificadas ao gênero *Lactobacillus* é demonstrada pela comparação da seqüência de nucleotídeos do RNA ribossomal 16S ribossomal RNA das bactérias da invenção, ou de seu DNA genômico que codifica o RNA ribossomal 16S, com aquelas de outros gêneros ou espécies de bactérias do ácido lático conhecidas até o momento. Outra alternativa preferida para determinar a ligação das espécies recém-identificadas ao gênero *Lactobacillus* é o uso de iniciadores de PCR espécie-específicos que selecionam a região de espaçador de 16S-23S rRNA. Outra alternativa preferida é RAPD-PCR (Nigatu et al. em Antonie van Leenwenhoek (79), 1-6, 2001) em virtude do fato de que é gerado um padrão de DNA específico de cepa que permite determinar a associação de um microorganismo identificado de acordo com a presente invenção ao gênero de *Lactobacillus*. Outras técnicas úteis para determinar a associação do microorganismo da presente invenção ao gênero de *Lactobacillus* são polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP) (Giraffa et al., *Int. J. Food Microbiol.* 82 (2003), 163-172), impressão digital dos elementos repetitivos (Gevers et al., *FEMS Microbiol. Lett.* 205 (2001) 31-36) ou análise do padrão de metil-éster de ácido graxo (FAME) das células bacterianas (Heyrman et al., *FEMS Microbiol. Lett.* 181 (1991), 55-62). Alternativamente, lactobacilos podem ser determinados por tipificação de lecitina (Annuk et al., *J. Med. Microbiol.* 50 (2001), 1069-1074) ou por análise de suas proteínas de parede celular (Gatti et al., *Lett. Appl. Microbiol.* 25 (1997), 345-348).

Em uma modalidade preferida do presente pedido o microorganismo é uma espécie probiótica de *Lactobacillus*. O termo

“probiótica” no contexto da presente invenção significa que o microorganismo tem um efeito benéfico sobre saúde se for topicamente aplicado na pele. Preferivelmente, um microorganismo “probiótico” é microorganismo vivo que, quando topicamente aplicado na pele, é benéfico para a saúde deste tecido. Muito mais preferivelmente, isto significa que o

5 microorganismo tem um efeito positivo sobre a microflora da pele.

Em uma modalidade preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, pertence às espécies *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis* ou *Lactobacillus fermentum*.

10 Contudo, as espécies *Lactobacillus* não são limitadas às mesmas.

Em uma modalidade particularmente preferida da presente invenção o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, é selecionado do grupo consistindo de *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis* ou *Lactobacillus fermentum* sendo depositado

15 na DSMZ sob o número de acesso DSM **17248** (*Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* LB-OB-H2), DSM **17247** (*Lactobacillus brevis* LB-OB-H1), DSM **17250** (*Lactobacillus brevis* LB-OB-H4) e DSM **17249** (*Lactobacillus fermentum* LB-OB-H3). A invenção também se refere a um mutante ou derivado das cepas de *Lactobacillus* depositadas acima mencionadas sendo

20 que ditos mutantes ou derivados têm retido sua capacidade para estimular o crescimento de pelo menos um microorganismo da flora microbiana residente da pele e sua propriedade de não estimular o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente.

O termo "*Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis* ou

25 *Lactobacillus fermentum* sendo depositado na DSMZ sob o número de acesso" refere-se às células de um microorganismo pertencendo às espécies *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis* ou *Lactobacillus fermentum* depositadas na Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) aos 18 de Abril de 2005 e tendo os seguintes números de depósito:

DSM **17248** (*Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* LB-OB-H02), DSM **17247** (*Lactobacillus brevis* LB-OB-H01), DSM **17250** (*Lactobacillus brevis* LB-OB-H04) e DSM **17249** (*Lactobacillus fermentum* LB-OB-H03). A DSMZ está localizada em Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Alemanha. Os depósitos acima mencionados foram feitos conforme os termos do tratado de Budapeste sobre o reconhecimento internacional do depósito de microorganismos para os propósitos de procedimentos de patente.

Em uma outra modalidade preferida o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, pertence à espécie de *Lactobacillus buchneri* ou *Lactobacillus delbrückii*. Contudo, as espécies de *Lactobacillus* não são limitadas às mesmas.

Em uma modalidade particularmente preferida da presente invenção o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, é selecionado do grupo consistindo de *Lactobacillus buchneri*, ou *Lactobacillus delbrückii* sendo depositado no DSMZ sob o número de acesso DSM **18007** (*Lactobacillus buchneri* OB-LB-Sa16) e DSM **18006** (*Lactobacillus delbrückii* ssp. *delbrückii* OB-LB-Sa3). A invenção também se refere a um mutante ou derivado das cepas de *Lactobacillus* depositadas acima mencionadas sendo que os ditos mutantes ou derivados têm mantido sua capacidade para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele.

O termo "*Lactobacillus buchneri* ou *Lactobacillus delbrückii* sendo depositado no DSMZ sob o número de acesso" refere-se às células de um microorganismo pertencendo à espécie *Lactobacillus buchneri*, ou *Lactobacillus delbrückii* depositada na Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) aos 24 de Fevereiro de 24, 2006 e tendo os seguintes números de depósito: DSM **18007** (*Lactobacillus*

*buchneri* OB-LB-Sa16) e DSM **18006** (*Lactobacillus delbrückii* ssp. *delbrückii* OB-LB-Sa3). A DSMZ está localizada em Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Alemanha. Os depósitos acima mencionados foram feitos conforme os termos do tratado de Budapeste sobre o reconhecimento internacional do depósito de microorganismos para os propósitos de procedimentos de patente.

Em uma outra modalidade particularmente preferida a presente invenção refere-se a qualquer combinação de pelo menos um dos microorganismos depositados de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, e pelo menos um dos microorganismos depositados de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima. Preferivelmente, o termo “combinação” significa qualquer combinação possível de pelo menos um dos microorganismos depositados de acordo com o aspecto (i) da invenção e pelo menos um dos microorganismos depositados de acordo com o aspecto (ii) da invenção, i.e. uma combinação de pelo menos um dos microorganismos depositados, específicos de acordo com o aspecto (i) da invenção e pelo menos um dos microorganismos depositados, específicos de acordo com o aspecto (ii) da invenção. Em uma outra modalidade preferida, o termo “combinação” também significa uma combinação do grupo inteiro de todos os microorganismos depositados de acordo com o aspecto (i), como descrito aqui acima, e o grupo inteiro de todos os microorganismos depositados de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima. Em uma outra modalidade preferida, o termo “combinação” também significa uma combinação de qualquer subgrupo do grupo de todos os microorganismos depositados de acordo com o aspecto (i), como descrito aqui acima, e qualquer subgrupo do grupo de todos os microorganismos depositados de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima. Particularmente preferida é uma combinação de *Lactobacillus brevis* LB-OB-H04, depositado como DSM **17250** e *Lactobacillus delbrückii* ssp.

*delbrückii* OB-LB-Sa3, depositado como DSM **18006**.

Em uma modalidade preferida particular os microorganismos de acordo com o aspecto (i) ou (ii) da invenção, como descrito aqui acima, são "isolados" ou "purificados". O termo "isolado" significa que o material é  
5 removido do ambiente original, e.g. o ambiente natural se for naturalmente  
ocorrente, ou o meio de cultura se for cultivado. Por exemplo, um  
microorganismo naturalmente ocorrente, preferivelmente uma espécie  
*Lactobacillus*, separado de alguns ou todos os materiais coexistentes no  
sistema natural, é isolado. Um tal microorganismo poderia ser parte de uma  
10 composição, e é para ser considerado como ainda estando isolado pelo fato de  
que a composição não é parte do ambiente natural.

O termo "purificado" não exige pureza absoluta; em vez disso, é intencionado como uma definição relativa. Microorganismos individuais obtidos de uma biblioteca têm sido convencionalmente purificados para  
15 homogeneidade biológica, i.e. eles crescem como colônias individuais quando  
espalhados sobre placas de ágar por métodos conhecidos na técnica.  
Preferivelmente, as placas de ágar que são usadas para este propósito são  
seletivas para espécie *Lactobacillus*. Tais placas de ágar seletivas são  
conhecidas na técnica.

Em outra modalidade da presente invenção, o microorganismo  
20 de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, está em  
uma forma inativada, que é, e.g., termalmente inativada ou liofilizada, mas  
que retém a propriedade de estimular o crescimento de microorganismos da  
microflora patogênica transiente.

De acordo com a presente invenção o termo "forma inativada  
25 do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito  
aqui acima" inclui uma célula morta ou inativada de um tal microorganismo,  
preferivelmente da espécie *Lactobacillus* aqui mostrada, que não é mais capaz  
de formar uma colônia única sobre uma placa específica para

microorganismos pertencendo ao gênero de *Lactobacillus*. Dita célula morta ou inativada pode ter uma membrana celular quer intacta quer quebrada. Métodos para matar ou inativar células do microorganismo da presente invenção são conhecidos na técnica. El-Nezami et al., *J. Food Prot.* 61 (1998), 466-468 descreve um método para inativar espécie *Lactobacillus* por irradiação UV. Preferivelmente, as células do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, são termalmente inativadas ou liofilizadas. Liofilização das células de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, tem a vantagem de que podem ser facilmente armazenadas e manuseadas enquanto retêm sua propriedade para estimular crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele enquanto que não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente. Além disso, células liofilizadas podem crescer de novo quando aplicadas sob condições conhecidas na técnica em meios líquidos ou sólidos apropriados. Liofilização é feita por métodos conhecidos na técnica. Preferivelmente, é realizada por pelo menos 2 horas na temperatura ambiente, i.e. qualquer temperatura entre 16°C e 25°C. Além disso, as células liofilizadas do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, são estáveis por pelo menos 4 semanas na temperatura de 4°C de modo a ainda manter suas propriedades como descrito acima. Inativação térmica pode ser realizada por incubação das células do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, por pelo menos 2 horas na temperatura de 170°C. Ainda, inativação térmica é preferivelmente realizada por tratamento em autoclave de células na temperatura de 121°C por pelo menos 20 minutos na presença de vapor saturado em uma pressão atmosférica de 200 kPa. Em uma alternativa, inativação térmica das células do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, é realizada por congelamento de ditas células por pelo menos 4 semanas, 3 semanas, 2 semanas, 1 semana, 12 horas,

6 horas, 2 horas ou 1 hora a  $-20^{\circ}\text{C}$ . É preferido que pelo menos 70%, 75% ou 80%, mais precisamente 85%, 90% ou 95% e particularmente preferido pelo menos 97%, 98%, 99% e mais particularmente preferido, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% ou 99,9% e muito mais particularmente preferido 100% das células da forma inativada do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, estejam mortas ou inativadas, contudo, ainda têm capacidade para estimular crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele mas não estimular crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente. Se a forma inativada do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, está de fato morta ou inativada pode ser testado por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, por um teste para viabilidade.

O termo “forma inativada do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima” também inclui lisados, frações ou extratos, do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, preferivelmente da espécie *Lactobacillus* aqui mostrada, sendo que ditos lisados, frações ou extratos preferivelmente estimulam o crescimento de um microorganismo da flora microbiana residente da pele e não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente, em particular, *Staphylococcus aureus* como aqui descrito. Esta estimulação pode ser testada como aqui descrito e em particular como descrito nos Exemplos anexados. No caso, de um lisado, fração ou extrato do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, poder estimular o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente, então a pessoa experiente na técnica, por exemplo, adicionalmente purifica dito lisado, fração ou extrato por métodos conhecidos na técnica, que são exemplificados aqui abaixo, de modo a remover substâncias que podem estimular o crescimento de

microorganismos da microflora patogênica transiente. Depois a pessoa experiente na técnica pode de novo testar dito lisado, fração ou extrato se ele estimula o crescimento de um microorganismo da flora microbiana residente da pele mas não o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente.

De acordo com a presente invenção o termo “lisado” significa uma solução ou suspensão em um meio aquoso de células do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, que estão quebradas ou um extrato. Contudo, o termo não deve ser entendido em nenhuma maneira limitante. O lisado de célula compreende, e.g., macromoléculas, como DNA, RNA, proteínas, peptídeos, carboidratos, lipídeos e assim por diante e/ou micromoléculas, como aminoácidos, açúcares, ácidos de lipídeo e assim por diante, ou suas frações. Adicionalmente, dito lisado compreende fragmentos celulares que podem ser de estrutura lisa ou granular. Métodos para preparar lisados de célula de microorganismo são conhecidos na técnica, por exemplo, pelo emprego de prensa Francesa, moagem de células usando glóbulos de vidro ou de ferro ou lise enzimática de célula e assim por diante. Em adição, lise de células refere-se a vários métodos conhecidos na técnica para abrir/destruir células. O método para lisar uma célula não é importante e qualquer método que pode realizar lise das células do microorganismo da presente invenção pode ser utilizado. Um apropriado pode ser escolhido pela pessoa experiente na técnica, e.g. abertura/destruição de células pode ser feita enzimática, química ou fisicamente. Exemplos não-limitantes para enzimas e coquetéis de enzimas são proteases, como proteinase K, lipases ou glicosidasas; exemplos não-limitantes para agentes químicos são ionóforos, detergentes, como dodecil-sulfato de sódio, ácidos ou bases; e exemplos não-limitantes de meios físicos são pressão alta, como prensagem Francesa, osmolaridade, temperatura, como calor ou frio. Adicionalmente, um método usando uma combinação

apropriada de uma enzima diferente de enzima proteolítica, um ácido, uma base e assim por diante também pode ser utilizado. Por exemplo, as células do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, são lisadas por congelamento e descongelamento, mais precisamente congelamento em temperaturas abaixo de  $-70^{\circ}\text{C}$  e descongelamento em temperaturas maiores do que  $30^{\circ}\text{C}$ , particularmente congelamento é preferido em temperaturas abaixo de  $-75^{\circ}\text{C}$  e descongelamento é preferido em temperatura acima de  $35^{\circ}\text{C}$  e muito mais preferidas são as temperaturas para congelamento abaixo de  $-80^{\circ}\text{C}$  e temperaturas para descongelamento acima de  $37^{\circ}\text{C}$ . Também é preferido que dito congelamento/descongelamento seja repetido pelo menos 1 vez, mais precisamente por pelo menos 2 vezes, ainda mais preferido por pelo menos 3 vezes, particularmente preferido por pelo menos 4 vezes e muito mais preferido por pelo menos 5 vezes.

Conseqüentemente, aquelas pessoas experientes na técnica podem preparar os lisados desejados referindo-se às explicações gerais acima, e apropriadamente modificando ou alterando aqueles métodos, se necessário. Preferivelmente, o meio aquoso usado para os lisados como descritos é água, solução salina fisiológica, ou uma solução tampão. Uma vantagem de um lisado de célula bacteriana é que pode ser facilmente produzido e armazenado eficientemente em termos de custo porque são necessárias menos instalações técnicas.

Preferivelmente, o termo “extrato” significa um componente subcelular do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção, e.g., uma macromolécula, como uma proteína, DNA, RNA, um peptídeo, um carboidrato, um lipídeo e assim por diante e/ou uma micromolécula, como um aminoácido, um açúcar, um ácido de lipídeo e assim por diante ou qualquer outro composto orgânico ou molécula orgânica, ou uma combinação de ditas macromoléculas e/ou micromoléculas ou qualquer fração delas, sendo que dito extrato estimula o crescimento de um

microorganismo da flora microbiana residente da pele e não estimula o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente, em particular, *Staphylococcus aureus* como aqui descrito. Esta estimulação pode ser testada como aqui descrito e em particular como descrito nos Exemplos anexados. Mais precisamente, o termo “extrato” refere-se a qualquer um dos componentes subcelulares descritos acima em um meio livre de células.

Em uma outra modalidade preferida um extrato pode ser obtido pela lise de células de acordo com vários métodos conhecidos na técnica para abrir/destruir células, como descrito aqui acima e/ou como sobrenadante de um procedimento de centrifugação de uma cultura do microorganismo da presente invenção em qualquer líquido, meio ou tampão conhecido pela pessoa experiente na técnica ou de um lisado de uma tal cultura ou qualquer outra suspensão de células adequada. Mais precisamente, o extrato pode ser um lisado purificado ou um sobrenadante de cultura de células purificado ou qualquer fração ou subporção dos mesmos purificada, sendo que dito lisado purificado ou sobrenadante de cultura de células purificado ou qualquer fração ou subporção dos mesmos purificada estimula o crescimento de um microorganismo da flora microbiana residente da pele e não estimula o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente, em particular, *Staphylococcus aureus* como aqui descrito. Esta estimulação pode ser testada como aqui descrito e em particular como descrito nos Exemplos anexados. Métodos adequados para fracionamento e purificação de um lisado, sobrenadante de cultura ou um extrato são conhecidos pela pessoa experiente na técnica e compreendem, por exemplo, cromatografia de afinidade, cromatografia de troca-iônica, cromatografia de exclusão de tamanho, cromatografia em fase reversa, e cromatografia com outro material cromatográfico em modos em batelada ou em coluna, outros métodos de fracionamento, e.g., métodos de filtração, e.g., ultrafiltração, diálise, diálise e concentração com exclusão de tamanho em centrifugação,

centrifugação em matrizes de degrau ou gradientes de densidade, precipitação, e.g., precipitações por afinidade, solubilização por sais ou precipitação por sais (precipitação por sulfato de amônio), precipitações alcoólicas ou qualquer outro método de química de proteína, biologia molecular, bioquímico, imunológico, químico ou físico.

De acordo com a invenção, lisados também são preparações de frações de moléculas dos lisados mencionados acima. Estas frações podem ser obtidas por métodos conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica, e.g., cromatografia, incluindo, e.g., cromatografia de afinidade, cromatografia de troca-iônica, cromatografia de exclusão de tamanho, cromatografia em fase reversa, e cromatografia com outro material cromatográfico em modos em batelada ou em coluna, outros métodos de fracionamento, e.g., métodos de filtração, e.g., ultrafiltração, diálise, diálise e concentração com exclusão de tamanho em centrifugação, centrifugação em matrizes de degrau ou gradientes de densidade, precipitação, e.g., precipitações por afinidade, solubilização por sais ou precipitação por sais (precipitação por sulfato de amônio), precipitações alcoólicas ou outros métodos de química de proteína, biologia molecular, bioquímico, imunológico, químico ou físico para separar os componentes acima dos lisados. Em uma modalidade preferida aquelas frações, que são mais imunogênicas do que outras, são preferidas. Aquelas pessoas experientes na técnica são capazes de escolher um método adequado e determinar seu potencial imunogênico por referência às explicações gerais acima e explicações específicas nos exemplos aqui, e apropriadamente modificando ou alterando aqueles métodos, se necessário.

Conseqüentemente, o termo “uma forma inativa do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima,” também inclui filtrados do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, preferivelmente da espécie *Lactobacillus* aqui mostrada, sendo que ditos filtrados preferivelmente

estimulam o crescimento de um microorganismo da flora microbiana residente da pele e não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente, em particular, *Staphylococcus aureus* como aqui descrito.

5                   Esta estimulação pode ser testada como aqui descrito e em particular como descrito nos Exemplos anexados. No caso de, um filtrado do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, poder estimular o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente, então a pessoa experiente pode, por exemplo,  
10                   adicionalmente purificar dito lisado ou fração por métodos conhecidos na técnica, que são exemplificados aqui abaixo, de modo a remover substâncias que podem estimular o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente. Depois a pessoa experiente na técnica pode de novo testar dito filtrado se ele estimula o crescimento de um microorganismo da  
15                   flora microbiana residente da pele mas não o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente.

                  O termo “filtrado” significa uma suspensão ou solução livre de células do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima que tem sido obtida como sobrenadante de um  
20                   procedimento de centrifugação de uma cultura do microorganismo da presente invenção em qualquer líquido, meio ou tampão conhecido pela pessoa experiente na técnica. Contudo, o termo não deve ser entendido em nenhuma maneira limitante. O filtrado compreende, e.g., macromoléculas, como DNA, RNA, proteínas, peptídeos, carboidratos, lipídeos e assim por  
25                   diante e/ou micromoléculas, como aminoácidos, açúcares, ácidos de lipídeo e assim por diante, ou suas frações. Métodos para preparar filtrados de microorganismo são conhecidos na técnica. Em adição, “filtrado” refere-se aos vários métodos conhecidos na técnica. O método exato não é importante e qualquer método que pode realizar filtração das células do microorganismo de

acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, pode se utilizado.

O termo “uma forma inativa do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima” inclui qualquer parte das células do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima. Preferivelmente, dita forma inativa é uma fração de membrana obtida por uma preparação de membrana. Preparações de membrana de microorganismos pertencendo ao gênero de *Lactobacillus* podem ser obtidas por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, pela utilização do método descrito em Rollan et al., *Int. J. Food Microbiol.* 70 (2001), 303-307, Matsuguchi et al., *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10 (2003), 259-266 ou Stentz et al., *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (2000), 4272-4278 ou Varmanen et al., *J. Bacteriology* 182 (2000), 146-154. Alternativamente, uma preparação de célula inteira também é considerada.

Em outra modalidade da presente invenção, o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, está em uma forma inativada, que é, e.g., termalmente inativada ou liofilizada, mas que retém a propriedade de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e de não inibir o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele.

De acordo com a presente invenção o termo “forma inativada do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima” inclui uma célula morta ou inativada de um tal microorganismo, preferivelmente da espécie *Lactobacillus* aqui mostrada, que não é mais capaz de formar uma colônia única sobre uma placa específica para microorganismos pertencendo ao gênero de *Lactobacillus*. Dita célula morta ou inativada pode ter uma membrana celular quer intacta quer quebrada. Métodos para matar ou inativar células do microorganismo da presente

invenção são conhecidos na técnica. El-Nezami et al., J. Food Prot. 61 (1998), 466-468 descreve um método para inativar espécie *Lactobacillus* por irradiação UV. Preferivelmente, as células do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, são termalmente inativadas ou liofilizadas. Liofilização das células de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima tem a vantagem de que elas podem ser facilmente armazenadas e manuseadas enquanto retêm sua propriedade de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e de não inibir o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele. Além disso, células liofilizadas podem ser crescidas de novo quando aplicadas sob condições conhecidas na técnica em meios líquidos ou sólidos apropriados. Liofilização é feita por métodos conhecidos na técnica. Preferivelmente, é realizada por pelo menos 2 horas na temperatura ambiente, i.e. qualquer temperatura entre 16°C e 25°C. Além disso, as células liofilizadas do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, são estáveis por pelo menos 4 semanas na temperatura de 4°C de modo a ainda reterem suas propriedades como descrito acima. Inativação térmica pode ser realizada pela incubação das células do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, por pelo menos 2 horas na temperatura de 170°C. Ainda, inativação térmica é preferivelmente realizada por tratamento em autoclave de ditas células na temperatura de 121°C por pelo menos 20 minutos na presença de vapor saturado em uma pressão atmosférica de 200 kPa. Em uma alternativa, inativação térmica das células do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, é realizada por congelamento de ditas células por pelo menos 4 semanas, 3 semanas, 2 semanas, 1 semana, 12 horas, 6 horas, 2 horas ou 1 hora a -20°C. É preferido que pelo menos 70%, 75% ou 80%, mais precisamente 85%, 90% ou 95% e particularmente

preferido pelo menos 97%, 98%, 99% e mais particularmente preferido, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% ou 99,9% e muito mais particularmente preferido 100% das células da forma inativada do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui  
5 acima, estejam mortas ou inativadas, contudo, elas ainda têm a capacidade para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele mas não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele. Se a forma inativada do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como  
10 descrito aqui acima, está de fato morta ou inativada pode ser testado por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, por um teste de viabilidade.

O termo “forma inativada do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima” também inclui lisados, frações ou extratos do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da  
15 invenção, como descrito aqui acima, preferivelmente da espécie *Lactobacillus* aqui mostrada, sendo que ditos lisados frações ou extratos preferivelmente inibem o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele, preferivelmente de *Staphylococcus aureus* e não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal  
20 saudável da pele. Esta inibição pode ser testada como aqui descrito e em particular como descrito nos Exemplos anexados. No caso de, um lisado, fração ou extrato do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, não poder inibir ou estimular o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente da  
25 pele, então a pessoa experiente pode, por exemplo, adicionalmente purificar dito lisado, fração ou extrato por métodos conhecidos na técnica, que são exemplificados aqui abaixo, de modo a remover substâncias que podem estimular o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente da pele. Depois a pessoa experiente na técnica pode de novo testar

dito lisado, fração ou extrato se inibe o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele mas não o crescimento de um microorganismo da microflora residente da pele.

De acordo com a presente invenção o termo “lisado” significa  
5 uma solução ou suspensão em um meio aquoso de células do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, que estão quebradas ou um extrato. Contudo, o termo não deve ser entendido em nenhuma maneira limitante. O lisado de célula compreende, e.g., macromoléculas, como DNA, RNA, proteínas, peptídeos, carboidratos,  
10 lipídeos e assim por diante e/ou micromoléculas, como aminoácidos, açúcares, ácidos de lipídeo e assim por diante, ou suas frações. Adicionalmente, dito lisado compreende fragmentos celulares que podem ser de estrutura lisa ou granular. Métodos para preparar lisados de célula de microorganismo são conhecidos na técnica, por exemplo, pelo emprego de  
15 prensa Francesa, moagem de células usando glóbulos de vidro ou de ferro ou lise enzimática de célula e assim por diante. Em adição, lise de células refere-se a vários métodos conhecidos na técnica para abrir/destruir células. O método para lisar uma célula não é importante e qualquer método que pode realizar lise das células do microorganismo da presente invenção pode se  
20 utilizado. Um apropriado pode ser escolhido pela pessoa experiente na técnica, e.g. abertura/destruição de células pode ser feita enzimática, química ou fisicamente. Exemplos não-limitantes para enzimas e coquetéis de enzimas são proteases, como proteinase K, lipases ou glicosidasas; exemplos não-limitantes para agentes químicos são ionóforos, detergentes, como dodecil-sulfato de sódio, ácidos ou bases; e exemplos não-limitantes de meios físicos  
25 são pressão alta, como prensagem Francesa, osmolaridade, temperatura, como calor ou frio. Adicionalmente, um método usando uma combinação apropriada de uma enzima diferente de enzima proteolítica, um ácido, uma base e assim por diante também pode ser utilizado. Por exemplo, as células do

microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, são lisadas por congelamento e descongelamento, mais precisamente congelamento em temperaturas abaixo de  $-70^{\circ}\text{C}$  e descongelamento em temperaturas maiores do que  $30^{\circ}\text{C}$ , particularmente congelamento é preferido em temperaturas abaixo de  $-75^{\circ}\text{C}$  e descongelamento é preferido em temperatura acima de  $35^{\circ}\text{C}$  e muito mais preferidas são as temperaturas para congelamento abaixo de  $-80^{\circ}\text{C}$  e temperaturas para descongelamento acima de  $37^{\circ}\text{C}$ . Também é preferido que dito congelamento/descongelamento seja repetido pelo menos 1 vez, mais precisamente por pelo menos 2 vezes, ainda mais preferido por pelo menos 3 vezes, particularmente preferido por pelo menos 4 vezes e muito mais preferido por pelo menos 5 vezes.

Conseqüentemente, aquelas pessoas experientes na técnica podem preparar os lisados desejados referindo-se às explicações gerais acima, e apropriadamente modificando ou alterando aqueles métodos, se necessário. Preferivelmente, o meio aquoso usado para os lisados como descritos é água, solução salina fisiológica, ou uma solução tampão. Uma vantagem de um lisado de célula bacteriana é que pode ser facilmente produzido e armazenado eficientemente em termos de custo porque são necessárias menos instalações técnicas.

Preferivelmente, o termo “extrato” significa um componente subcelular do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção, e.g., uma macromolécula, como uma proteína, DNA, RNA, um peptídeo, um carboidrato, um lipídeo e assim por diante e/ou uma micromolécula, como um aminoácido, um açúcar, um ácido de lipídeo e assim por diante ou qualquer outro composto orgânico ou molécula orgânica, ou uma combinação de ditas macromoléculas e/ou micromoléculas ou qualquer fração delas, sendo que dito extrato inibe o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele, preferivelmente de *Staphylococcus aureus*, e não inibe o crescimento de

microorganismos da microflora residente normal saudável da pele como aqui descrito. Esta inibição pode ser testada como aqui descrito e em particular como descritos nos Exemplos anexados. Mais precisamente, o termo “extrato” refere-se a qualquer um dos componentes subcelulares descritos acima em um meio livre de células.

Em uma outra modalidade preferida um extrato pode ser obtido pela lise de células de acordo com vários métodos conhecidos na técnica para abrir/destruir células, como descrito aqui acima e/ou como sobrenadante de um procedimento de centrifugação de uma cultura do microorganismo da presente invenção em qualquer líquido, meio ou tampão conhecido pela pessoa experiente na técnica ou de um lisado de uma tal cultura ou qualquer outra suspensão de células adequada. Mais precisamente, o extrato pode ser um lisado purificado ou um sobrenadante de cultura de células purificado ou qualquer fração ou subporção dos mesmos purificada, sendo que dito lisado purificado ou sobrenadante de cultura de células purificado ou qualquer fração ou subporção dos mesmos purificada inibe o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele, preferivelmente de *Staphylococcus aureus*, e não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele como aqui descrito. Esta inibição pode ser testada como aqui descrito e em particular como descritos nos Exemplos anexados. Métodos adequados para fracionamento e purificação de um lisado, sobrenadante de cultura ou um extrato são conhecidos pela pessoa experiente na técnica e compreendem, por exemplo, cromatografia de afinidade, cromatografia de troca-iônica, cromatografia de exclusão de tamanho, cromatografia em fase reversa, e cromatografia com outro material cromatográfico em modos em batelada ou em coluna, outros métodos de fracionamento, e.g., métodos de filtração, e.g., ultrafiltração, diálise, diálise e concentração com exclusão de tamanho em centrifugação, centrifugação em matrizes de degrau ou gradientes de

densidade, precipitação, e.g., precipitações por afinidade, solubilização por sais ou precipitação por sais (precipitação por sulfato de amônio), precipitações alcoólicas ou qualquer outro método de química de proteína, biologia molecular, bioquímico, imunológico, químico ou físico.

5 De acordo com a invenção, lisados também são preparações de frações de moléculas dos lisados mencionados acima. Estas frações podem ser obtidas por métodos conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica, e.g., cromatografia, incluindo, e.g., cromatografia de afinidade, cromatografia de troca-iônica, cromatografia de exclusão de tamanho, cromatografia em fase  
10 reversa, e cromatografia com outro material cromatográfico em modos em batelada ou em coluna, outros métodos de fracionamento, e.g., métodos de filtração, e.g., ultrafiltração, diálise, diálise e concentração com exclusão de tamanho em centrifugação, centrifugação em matrizes de degrau ou gradientes de densidade, precipitação, e.g., precipitações por afinidade,  
15 solubilização por sais ou precipitação por sais (precipitação por sulfato de amônio), precipitações alcoólicas ou outros métodos de química de proteína, biologia molecular, bioquímico, imunológico, químico ou físico para separar os componentes acima dos lisados. Em uma modalidade preferida aquelas frações, que são mais imunogênicas do que outras, são preferidas. Aquelas  
20 pessoas experientes na técnica são capazes de escolher um método adequado e determinar seu potencial imunogênico por referência às explicações gerais acima e explicações específicas nos exemplos aqui, e apropriadamente modificando ou alterando aqueles métodos, se necessário.

25 Conseqüentemente, o termo “uma forma inativa do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima” também inclui filtrados do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, preferivelmente da espécie *Lactobacillus* aqui mostrada, sendo que ditos filtrados preferivelmente inibem o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica

transiente da pele, preferivelmente de *Staphylococcus aureus* e não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele. Esta inibição pode ser testada como aqui descrito e em particular como descritos nos Exemplos anexados. No caso de, um filtrado do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, não poder inibir ou estimular o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele, então a pessoa experiente pode, por exemplo, adicionalmente purificar dito filtrado por métodos conhecidos na técnica, de modo a remover substâncias que podem estimular o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente da pele. Depois a pessoa experiente na técnica pode de novo testar dito filtrado se ele inibe o crescimento de um microorganismo da microflora patogênica transiente da pele mas não o crescimento de um microorganismo da microflora residente da pele.

O termo “filtrado” significa uma suspensão ou solução livre de células do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, que tem sido obtida como sobrenadante de um procedimento de centrifugação de uma cultura do microorganismo da presente invenção em qualquer líquido, meio ou tampão conhecido pela pessoa experiente na técnica. Contudo, o termo não deve ser entendido em nenhuma maneira limitante. O filtrado compreende, e.g., macromoléculas, como DNA, RNA, proteínas, peptídeos, carboidratos, lipídeos e assim por diante e/ou micromoléculas, como aminoácidos, açúcares, ácidos de lipídeo e assim por diante, ou suas frações. Métodos para preparar filtrados de microorganismo são conhecidos na técnica. Em adição, “filtrado” refere-se aos vários métodos conhecidos na técnica. O método exato não é importante e qualquer método que pode realizar filtração das células do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, pode se utilizado.

O termo “uma forma inativa do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima” inclui qualquer parte das células do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima. Preferivelmente, dita forma inativa é  
5 uma fração de membrana obtida por uma preparação de membrana. Preparações de membrana de microorganismos pertencendo ao gênero de *Lactobacillus* podem ser obtidas por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, pela utilização do método descrito em Rollan et al., *Int. J. Food Microbiol.* 70 (2001), 303-307, Matsuguchi et al., *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*  
10 10 (2003), 259-266 ou Stentz et al., *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (2000), 4272-4278 ou Varmanen et al., *J. Bacteriology* 182 (2000), 146-154. Alternativamente, uma preparação de célula inteira também é considerada.

Uma composição de acordo com a presente invenção refere-se a uma composição compreendendo (i) um microorganismo que é capaz de  
15 estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais  
20 microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. Preferivelmente, o termo “composição” refere-se a uma combinação de (i) um microorganismo que é  
25 capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais

microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. O termo “combinação” significa

5 qualquer proporção de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado

10 capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima entre até 0,001% de (i) e pelo menos

15 99,999% de (ii), e pelo menos 99,999% de (i) e até 0,001% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii), até 0,1% de (i) e pelo menos 99,9% de (ii), pelo menos 99% de (i) e até 1% de (ii), pelo

20 menos 98% de (i) e até 2% de (ii), pelo menos 95% de (i) e até 5% de (ii), pelo menos 90% de (i) e até 10% de (ii), pelo menos 80% de (i) e até 20% de (ii), pelo menos 75% de (i) e até 25% de (ii), pelo menos 70% de (i) e até 30% de (ii), até 30% de (i) e pelo menos 70% de (ii), até 25% de (i) e pelo menos

25 menos 90% de (ii), até 5% de (i) e pelo menos 95% de (ii), até 2% de (i) e pelo menos 98% de (ii), pelo menos 99% de (i) e até 1% de (ii), até 0,1% de (i) e pelo menos 99,9% de (ii), até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Mais precisamente, o termo

refere-se a uma proporção de pelo menos 65% de (i) e até 35% de (ii), pelo menos 60% de (i) e até 40% de (ii), pelo menos 59% de (i) e até 41% de (ii), pelo menos 58% de (i) e até 42% de (ii), pelo menos 57% de (i) e até 43% de (ii), pelo menos 56% de (i) e até 44% de (ii), pelo menos 55% de (i) e até 45% de (ii), pelo menos 54% de (i) e até 46% de (ii), pelo menos 53% de (i) e até 47% de (ii), pelo menos 52% de (i) e até 48% de (ii), pelo menos 51% de (i) e até 49% de (ii), até 49% de (i) e pelo menos 51% de (ii), até 48% de (i) e pelo menos 52% de (ii), até 47% de (i) e pelo menos 53% de (ii), até 46% de (i) e pelo menos 54% de (ii), até 45% de (i) e pelo menos 55% de (ii), até 44% de (i) e pelo menos 56% de (ii), até 43% de (i) e pelo menos 57% de (ii), até 42% de (i) e pelo menos 58% de (ii), até 41% de (i) e pelo menos 59% de (ii), até 40% de (i) e pelo menos 60% de (ii), até 35% de (i) e pelo menos 65% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Muito mais preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de pelo menos 50% de (i) e até 50% de (ii) ou de até 50% de (i) e pelo menos 50% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Preferivelmente, o termo “proporção” exclusivamente refere-se à razão entre (i) e (ii) na composição, o termo “proporção”, portanto, não exclui a presença de outros componentes na composição em qualquer quantidade ou concentração adequada, como conhecido pela pessoa experiente na técnica.

Em uma outra modalidade preferida, uma "combinação" de microorganismos de acordo com o aspecto (i) e (ii) da presente invenção significa uma combinação de microorganismos, sendo que o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do

microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção. O termo “influencia negativamente” preferivelmente significa que não pode ser encontrada inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e que não pode ser encontrada inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (i).

Em uma modalidade preferida, dita composição compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção, como descrito acima em uma quantidade entre  $10^2$  e  $10^{12}$  células, preferivelmente  $10^3$  e  $10^8$  células por mg e um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção, como descrito acima em uma quantidade entre  $10^2$  e  $10^{12}$  células, preferivelmente  $10^3$  e  $10^8$  células por mg, em uma forma sólida da composição. no caso de uma forma líquida das composições, a quantidade dos microorganismos de acordo com o aspecto (i) e (ii) da invenção está entre  $10^2$  e  $10^{13}$  células por mL. Em uma outra modalidade preferida ditas composições estão na forma de emulsões, e.g. emulsões de óleo em água ou de água em óleo, na forma de unguentos ou na forma de microcápsulas. No caso de emulsões, unguentos ou microcápsulas as composições compreendem um microorganismo de acordo com o aspecto (i) e (ii) da invenção como aqui descrito em uma quantidade entre  $10^2$  e  $10^{13}$  células por mL. Contudo, para composições específicas a quantidade do microorganismo pode ser diferente como é aqui descrito.

Preferivelmente, o termo “composição”, como usado de acordo com a presente invenção, refere-se a (a) composição(ões) que compreende(m) pelo menos um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, ou mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e pelo

menos um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, ou mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. É considerado que as composições da presente invenção, que são descritas aqui abaixo

5 compreendem os ingredientes anteriormente mencionados em qualquer arranjo. Podem, opcionalmente, compreender pelo menos um outro ingrediente adequado para proteger a pele contra microorganismos patogênicos. Conseqüentemente, pode adequadamente compreender qualquer arranjo, mistura de agrupamento dos outros ingredientes descritos em seguida.

10 O termo “ingredientes adequados para proteger a pele contra microorganismos patogênicos” inclui compostos ou composições e/ou suas combinações que abaixam o pH.

A composição pode estar na forma sólida, líquida ou gasosa e pode estar, inter alia, na forma de (um) pó(s), (uma) solução(ões) (um)

15 aerossol(óis), suspensões, emulsões, líquidos, elixires, extratos, tintura ou extratos fluidos ou em uma forma que é particularmente adequada para administração tópica. Formas adequadas para aplicação tópica incluem, e.g., uma pasta, um unguento, uma loção, um creme, um gel ou um emplastro transdermal.

20 O termo “composição” também inclui composições têxteis como descritas posteriormente abaixo.

Preferivelmente, a composição da presente invenção é uma composição cosmética adicionalmente compreendendo um veículo ou excipiente cosmeticamente aceitável. Mais precisamente, dita composição

25 cosmética é uma pasta, um unguento, uma loção, um creme ou um gel.

A composição cosmética da presente invenção compreende o microorganismo de acordo com o aspecto (i) e (ii) da invenção, como descrito aqui acima, mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado do mesmo como descrito acima em conexão com a composição da invenção e

adicionalmente um veículo cosmeticamente aceitável. Preferivelmente a composição cosmética da presente invenção é para uso em aplicações tópicas.

O termo "veículo cosmeticamente aceitável" como aqui usado significa um veículo adequado, que pode ser usado para aplicar as presentes composições na pele em uma maneira segura e eficaz. Tal veículo pode incluir materiais tais como emulsões, e.g. emulsões de óleo em água ou de água em óleo, unguentos ou microcápsulas. Também é vantajoso administrar os ingredientes ativos na forma encapsulada, e.g. como encapsulação de celulose, em gelatina, com poliamidas, niossomos, matrizes de cera, com ciclodextrinas ou lipossomalmente encapsulados. O termo "quantidade segura e eficaz" como aqui usado, significa uma quantidade suficiente para estimular crescimento de pelo menos um microorganismo da flora microbiana residente da pele de acordo com o aspecto (i) da presente invenção e uma quantidade suficiente para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção.

Em outro aspecto a presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo o microorganismo de acordo com o aspecto (i) e (ii) da invenção, como descrito aqui acima, ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado do mesmo como descrito acima e adicionalmente compreendendo um excipiente ou veículo aceitável farmacêutico. A composição farmacêutica preferivelmente está em uma forma, que é adequada para administração tópica.

Em outro aspecto a presente invenção refere-se a um kit. O termo "kit" refere-se a um kit compreendendo (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima, e (ii)

um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. Preferivelmente, o termo “kit” refere-se a uma combinação de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima na forma de elementos de recipiente diferentes. O termo “combinação na forma de elementos de recipiente diferentes” significa qualquer proporção de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima entre até 0,001% de (i) e pelo menos 99,999% de (ii), e pelo menos 99,999% de (i) e até 0,001% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL.

Preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii), até 0,1% de (i) e pelo menos 99,9% de (ii), pelo menos 99% de (i) e até 1% de (ii), pelo menos 98% de (i) e até 2% de (ii), pelo menos 95% de (i) e até 5% de (ii), pelo menos 90% de (i) e até 10% de (ii),  
5 pelo menos 80% de (i) e até 20% de (ii), pelo menos 75% de (i) e até 25% de (ii), pelo menos 70% de (i) e até 30% de (ii), até 30% de (i) e pelo menos 70% de (ii), até 25% de (i) e pelo menos 75% de (ii), até 20% de (i) e pelo menos 80% de (ii), até 10% de (i) e pelo menos 90% de (ii), até 5% de (i) e pelo menos 95% de (ii), até 2% de (i) e pelo menos 98% de (ii), pelo menos 99%  
10 de (i) e até 1% de (ii), até 0,1% de (i) e pelo menos 99,9% de (ii), até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Mais precisamente, o termo refere-se a uma proporção de pelo menos 65% de (i) e até 35% de (ii), pelo menos 60% de (i) e até 40% de  
15 (ii), pelo menos 59% de (i) e até 41% de (ii), pelo menos 58% de (i) e até 42% de (ii), pelo menos 57% de (i) e até 43% de (ii), pelo menos 56% de (i) e até 44% de (ii), pelo menos 55% de (i) e até 45% de (ii), pelo menos 54% de (i) e até 46% de (ii), pelo menos 53% de (i) e até 47% de (ii), pelo menos 52% de (i) e até 48% de (ii), pelo menos 51% de (i) e até 49% de (ii), até 49% de (i) e  
20 pelo menos 51% de (ii), até 48% de (i) e pelo menos 52% de (ii), até 47% de (i) e pelo menos 53% de (ii), até 46% de (i) e pelo menos 54% de (ii), até 45% de (i) e pelo menos 55% de (ii), até 44% de (i) e pelo menos 56% de (ii), até 43% de (i) e pelo menos 57% de (ii), até 42% de (i) e pelo menos 58% de (ii), até 41% de (i) e pelo menos 59% de (ii), até 40% de (i) e pelo menos 60% de  
25 (ii), até 35% de (i) e pelo menos 65% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Muito mais preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de pelo menos 50% de (i) e até 50% de (ii) ou de até 50% de (i) e pelo menos 50% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela

5 pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL, sendo que o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção pode ser aplicado em um elemento recipiente diferente do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção. Preferivelmente, o termo “proporção”  
10 exclusivamente refere-se à razão entre (i) e (ii) no kit, o termo “proporção”, portanto, não exclui a presença de outros componentes no kit em qualquer quantidade ou concentração adequada, como conhecido pela pessoa experiente na técnica. O termo “elemento recipiente” refere-se a qualquer recipiente adequado conhecido pela pessoa experiente na técnica, e.g. em  
15 forma sólida, líquida, de pó, aquosa, liofilizada. Preferivelmente, o termo refere-se a qualquer recipiente adequado conhecido pela pessoa experiente na técnica que também compreende quer (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima, quer (ii) um  
20 microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima.

Em uma outra modalidade preferida, um “kit” compreendendo microorganismos de acordo com o aspecto (i) e (ii) da presente invenção significa uma combinação de microorganismos, sendo que o microorganismo  
25 de acordo com o aspecto (i) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção. O termo

“influencia negativamente” significa que não pode ser encontrada inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e que não pode ser encontrada inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (i).

Em uma modalidade preferida, dito kit compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção, como descrito acima em uma quantidade entre  $10^2$  e  $10^{12}$  células, preferivelmente  $10^3$  e  $10^8$  células por mg e um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção, como descrito acima em uma quantidade entre  $10^2$  e  $10^{12}$  células, preferivelmente  $10^3$  e  $10^8$  células por mg, em uma forma sólida da composição. no caso de uma forma líquida das composições, a quantidade dos microorganismos de acordo com o aspecto (i) e (ii) da invenção está entre  $10^2$  e  $10^{13}$  células por mL. Em uma outra modalidade preferida ditas composições estão na forma de emulsões, e.g. emulsões de óleo em água ou de água em óleo, na forma de unguentos ou na forma de microcápsulas. No caso de emulsões, unguentos ou microcápsulas as composições compreendem um microorganismo de acordo com o aspecto (i) e (ii) da invenção como aqui descrito em uma quantidade entre  $10^2$  e  $10^{13}$  células por mL. Contudo, para composições específicas a quantidade do microorganismo pode ser diferente como é aqui descrito.

Preferivelmente, o termo “kit”, como usado de acordo com a presente invenção, refere-se a (um) kit(s) que compreende(m) pelo menos um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, como descrito aqui acima, ou mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e pelo menos um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, como descrito aqui acima, ou mutante,

derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. É considerado que os kits da presente invenção que são descritos aqui abaixo compreendem os ingredientes anteriormente mencionados em qualquer arranjo. Podem, opcionalmente, compreender pelo menos um outro ingrediente adequado para proteger a pele contra microorganismos patogênicos. Conseqüentemente, pode adequadamente compreender qualquer arranjo, mistura de agrupamento dos outros ingredientes descritos em seguida. O termo “ingredientes adequados para proteger a pele contra microorganismos patogênicos” inclui compostos ou composições e/ou suas combinações que abaixam o pH.

Em uma outra modalidade preferida os elementos recipientes do kit como descrito aqui acima estão adicionalmente embalados em um elemento acondicionador de kit para preparar uma unidade individual, facilmente manuseada, onde o elemento acondicionador de kit, e. g., caixa ou estrutura análoga, pode ou não ser um recipiente hermético ao ar, e. g., para adicionalmente conservar o microorganismo de acordo com a invenção até o uso.

O kit de acordo com a presente invenção também pode incluir instruções de como administrar os elementos recipientes como descritos aqui acima. Preferivelmente, as instruções incluem informação sobre onde aplicar os elementos recipientes como descritos aqui acima, horários de dosagem, tabelas de horário etc. Em uma outra modalidade preferida, o kit inclui instruções sobre como usar os elementos recipientes como descritos aqui acima para tratar uma condição doentia particular.

As instruções estão geralmente gravadas sobre um substrato ou meio de gravação adequado. Por exemplo, as instruções podem estar impressas sobre um substrato, tal como papel ou plástico, etc. Como tais, as instruções podem estar presentes nos kits como um inserto de embalagem, no rótulo do recipiente do kit ou seus componentes (i. e., associado com a

embalagem ou sub-embalagem) etc. Em outra modalidade, as instruções estão presentes como um arquivo de dados de armazenagem eletrônica presente sobre um meio de armazenagem legível por computador adequado, e.g. CD-ROM, disquete, etc. Em ainda outra modalidade, as instruções reais não estão presentes no kit, mas são fornecidos meios para obter as instruções de uma fonte remota, e.g. via a internet. Um exemplo desta modalidade é um kit que inclui um endereço na *web* onde as instruções podem ser vistas e/ou do qual as instruções podem ser baixadas. Como com as instruções, este meio para obter as instruções é gravado sobre um substrato adequado.

10                   Composições farmacêuticas, kits ou elementos recipientes de um kit compreendem uma quantidade terapêuticamente efetiva de um microorganismo de aspecto (i)/(ii) da presente invenção ou de um derivado ou mutante da presente invenção ou uma forma inativa de dito microorganismo da presente invenção como descrito acima e pode ser formulada em várias formas, e.g. em forma sólida, líquida, de pó, aquosa, liofilizada.

15                   A composição farmacêutica, o kit ou o elemento recipiente do kit pode ser administrada(o) com um veículo farmacêuticamente aceitável a um paciente, como aqui descrito. Em uma modalidade específica, o termo "farmacêuticamente aceitável" significa aprovado por uma agência regulatória ou outra farmacopéia geralmente reconhecida para uso em animais, e mais particularmente em humanos.

20                   O termo "veículo" refere-se a um diluente, adjuvante, excipiente, ou agente de transporte com o qual o agente terapêutico é administrado. Um tal veículo é farmacêuticamente aceitável, i.e. é não-tóxico para um paciente recipiente na dosagem e na concentração utilizadas. É preferivelmente isotônico, hipotônico ou fracamente hipertônico e tem uma força iônica relativamente baixa, tal como proporcionado por uma solução de sacarose. Tais veículos farmacêuticos podem ser líquidos estéreis, tais como água e óleos, incluindo aqueles de origem de petróleo, animal, vegetal ou

sintética, tal como óleo de amendoim, óleo de feijão soja, óleo mineral, óleo de gergelim e assim por diante. Soluções salinas e soluções aquosas de dextrose e glicerol também podem ser utilizadas como veículos líquidos. Excipientes farmacêuticos adequados incluem amido, glicose, sacarose, 5 gelatina, malte, arroz, farinha, giz, gel de sílica, estearato de sódio, monoestearato de glicerol, talco, íon sódio, leite desnatado em pó, glicerol, propileno-glicol, água, etanol e assim por diante. A composição, se desejado, também pode conter quantidades menores de agentes emulsificantes ou umectantes, ou agentes tampão de pH. Estas composições podem tomar a 10 forma de, e.g., soluções, suspensões, emulsão, pós, formulações de liberação prolongada e assim por diante. Exemplos de veículos farmacêuticos adequados estão descritos em "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin. Alguns outros exemplos de substâncias que servem como 15 veículos farmacêuticos são açúcares, tais como glicose e sacarose; amidos tais como amido de milho e amido de batata; celulose e seus derivados tais como sódio-carbóxi-metil-celulose, etil-celulose e acetatos de celulose; tragacanto em pó; malte; gelatina; talco; ácido esteárico; estearato de magnésio; sulfato de cálcio; carbonato de cálcio; óleos vegetais, tais como óleos de amendoim, óleos de semente de algodão, óleo de gergelim, azeite de oliva, óleo de milho 20 e óleo de teobroma; polióis tais como propileno-glicol, glicerina, sorbitol, manitol, e poli(etileno-glicol); ágar; ácidos algínicos; água livre de pirogênio; solução salina isotônica; extratos de oxicoco e solução tampão fosfato; leite desnatado em pó; bem como outras substâncias compatíveis não-tóxicas usadas em formulações farmacêuticas tais como Vitamina C, estrogênio e 25 echinacea, por exemplo. Agentes umectantes e lubrificantes tais como lauril-sulfato de sódio, bem como agentes colorantes, agentes aromatizantes, lubrificantes, excipientes, agentes formadores de tablete, estabilizadores, antioxidantes e conservantes, também podem estar presentes. Também é vantajoso administrar os ingredientes ativos na forma encapsulada, e.g. como

encapsulação de celulose, em gelatina, com poliamidas, niossomas, matrizes de cera, com ciclodextrinas ou lipossomalmente encapsulados.

5 Geralmente, os ingredientes são fornecidos quer separadamente quer misturados juntos em forma de dosagem unitária, por exemplo, como um pó liofilizado seco ou concentrado livre de água em um recipiente hermeticamente vedado tal como uma ampola ou sachete indicando a quantidade de agente ativo.

10 A composição farmacêutica da invenção, o kit ou o elemento recipiente do kit da invenção podem ser formulados como formas neutras ou salinas. Sais farmacêuticamente aceitáveis incluem aqueles formados com ânions tais como aqueles derivados de ácidos clorídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc., e aqueles formados com cátions tais como aqueles derivados de hidróxidos de sódio, potássio, amônio, cálcio, férrico, isopropil-  
15 amina, trietil-amina, 2-etil-amino-etanol, histidina, procaína, etc.

20 Ensaio *in vitro* ou *in situ*, e.g. aqueles descritos nos Exemplos, podem ser opcionalmente utilizados para ajudar a identificar faixas de dosagem ótimas. A dose precisa a ser utilizada na formulação também dependerá da rota de administração, e da seriedade da doença ou do distúrbio, e deve ser decidida de acordo com o julgamento do médico e de cada uma das  
25 circunstâncias do paciente. A rota de administração tópica é preferida. Doses eficazes podem ser extrapoladas de curvas de dose-resposta derivadas de sistemas de teste modelo (animal) ou *in vitro*. Preferivelmente, a composição farmacêutica é administrada diretamente ou em combinação com um adjuvante. Preferivelmente, o kit ou o elemento recipiente do kit também contém um adjuvante. Adjuvantes podem ser selecionados do grupo consistindo de uma cloroquina, compostos polares próticos, tais como propileno-glicol, poli(etileno-glicol), glicerol, EtOH, 1-metil-L-2-pirrolidona ou seus derivados, ou compostos polares apróticos tais como dimetil-sulfóxido (DMSO), dietil-sulfóxido, di-n-propil-sulfóxido, dimetil-sulfona,

sulfolano, dimetil-formamida, dimetil-acetamida, tetrametil-uréia, acetonitrila ou seus derivados. Estes compostos são adicionados em condições respeitando limitações de pH. A composição ou o kit da presente invenção pode ser administrada(o) a um vertebrado. "Vertebrado" como aqui usado é  
5 intencionado para ter o mesmo significado como comumente entendido por uma pessoa experiente na técnica. Particularmente, "vertebrado" inclui mamíferos, e mais particularmente humanos.

O termo "administrado" significa administração de uma dose terapêuticamente efetiva da composição ou dos ingredientes de um elemento  
10 recipiente de kit anteriormente mencionados. "Quantidade terapêuticamente efetiva" significa uma dose que produz os efeitos para os quais ela é administrada, preferivelmente este efeito é a proteção da pele contra microorganismos patogênicos. A dose exata dependerá do propósito do tratamento, e será determinável por uma pessoa experiente na técnica usando  
15 técnicas conhecidas. Como é conhecido na técnica e descrito acima, ajustes para liberação sistêmica versus localizada, idade, peso corporal, saúde geral, sexo, dieta, tempo de administração, interação de droga e a severidade da condição podem ser necessários, e serão determináveis com experimentação de rotina por aquelas pessoas experientes na técnica.

Os métodos são aplicáveis a ambas terapia de humano e  
20 aplicações veterinárias. Os compostos aqui descritos tendo a atividade terapêutica desejada podem ser administrados em um veículo fisiologicamente aceitável a um paciente, como aqui descrito. Dependendo da maneira de administração, os compostos podem ser formulados em uma  
25 variedade de maneiras como discutidas abaixo. A concentração do composto terapêuticamente ativo na formulação pode variar de cerca de 0,01-100% em peso. O agente ou kit pode ser administrado sozinho ou em combinação com outros tratamentos.

A administração da composição farmacêutica ou do kit pode

ser feita em uma variedade de maneiras. A rota de administração preferível é a rota tópica.

O médico atendente e fatores clínicos determinarão o regime de dosagem. Como é bem conhecido nas técnicas médicas, dosagens para qualquer paciente depende, de muitos fatores, incluindo o tamanho do paciente, a área superficial corporal, a idade, o composto particular a ser administrado, o sexo, o tempo e a rota de administração, a saúde geral, e outras drogas sendo administradas concorrentemente. Uma dose típica pode estar, por exemplo, dentro da faixa de 0,001 a 1.000  $\mu\text{g}$ ; contudo, doses abaixo ou acima desta faixa exemplar são previstas, especialmente considerando os fatores anteriormente mencionados.

As dosagens são preferivelmente dadas uma vez ao mês, uma vez por semana, mais precisamente 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes ou 6 vezes por semana e muito mais preferivelmente diariamente e ainda mais precisamente, 2 vezes por dia ou mais freqüentemente. Em particular, pode ser preferível dar uma dosagem cada vez após ocorrência de um distúrbio da flora residente da pele, e.g. por lavagem. Contudo, durante progressão do tratamento as dosagens podem ser dadas em intervalos de tempo muito mais longos e em necessidade podem ser dadas em intervalos de tempo muito mais curtos, e.g., várias vezes ao dia. Em um caso preferido a resposta imune é monitorada usando métodos aqui descritos e outros métodos conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica e dosagens são otimizadas, e.g., em tempo, quantidade e/ou composição. Progresso pode ser monitorado por avaliação periódica. Também é previsto que as composições farmacêuticas ou os kits sejam empregados em abordagens de co-terapia, i.e. em co-administração com outros medicamentos ou drogas, por exemplo outras drogas para proteger a pele contra microorganismos patogênicos.

Em uma modalidade preferida os elementos recipientes do kit como descritos aqui acima podem ser administrados no mesmo tempo ou em

instantes de tempo diferentes considerados adequados por uma pessoa experiente na técnica. Preferivelmente, o elemento recipiente do kit que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, i.e. um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima, pode ser administrado entre até 1 minuto e até 3 meses após a administração do elemento recipiente do kit compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, i.e. um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. Mais precisamente, a administração do elemento recipiente do kit, que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) pode ser no intervalo de até 10 minutos, até 30 minutos, até 1 hora, até 2 horas, até 4 horas, até 6 horas, até 10 horas, até 12 horas, até 18 horas, até 2 dias, até 3 dias, até 4 dias, até 5 dias, até 6 dias, até 7 dias, até 2 semanas, até 3 semanas, até 4 semanas, ou até 2 meses após a administração do elemento recipiente do kit compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção. Ainda mais precisamente, a administração do elemento recipiente do kit, que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) pode ser no intervalo de até 20 horas, até 30 horas ou até 36 horas após a administração do elemento recipiente do kit compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção. Muito mais preferivelmente, a administração do elemento recipiente do kit, que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) pode ser no intervalo de até 24 horas após a administração do elemento recipiente do kit

compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção.

Em outra modalidade preferida o elemento recipiente do kit que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, i.e. um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima, pode ser administrado entre até 1 minuto e até 3 meses após a administração do elemento recipiente do kit compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, i.e. um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. Mais precisamente, a administração do elemento recipiente do kit, que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (i) pode ser no intervalo de até 10 minutos, até 30 minutos, até 1 hora, até 2 horas, até 4 horas, até 6 horas, até 10 horas, até 12 horas, até 18 horas, até 2 dias, até 3 dias, até 4 dias, até 5 dias, até 6 dias, até 7 dias, até 2 semanas, até 3 semanas, até 4 semanas, ou até 2 meses após a administração do elemento recipiente do kit compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção. Ainda mais precisamente, a administração do elemento recipiente do kit, que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (i) pode ser no intervalo de até 20 horas, até 30 horas ou até 36 horas após a administração do elemento recipiente do kit compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção. Muito mais preferivelmente, a administração do elemento recipiente do kit, que compreende um microorganismo de acordo com o aspecto (i) pode ser no intervalo de até 24 horas após a administração

do elemento recipiente do kit compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção.

Administração tópica da composição cosmética ou farmacêutica ou do kit da presente invenção é útil quando o tratamento desejado envolve áreas ou órgãos prontamente acessíveis pela administração tópica. Para aplicação tópica na pele, a composição farmacêutica, o kit ou elemento recipiente do kit é preferivelmente formulada(o) com uma pasta, unguento, loção, creme, gel ou emplastos transdermais adequados. As preparações cosméticas ou farmacêuticas podem, dependendo do campo de uso, estarem também na forma de um borrifo (aerossol ou borrifo de bomba), espuma, borrifo de gel, musse, suspensões ou pós.

Uma pasta adequada compreende o ingrediente ativo suspenso em um veículo, Tais veículos incluem, mas não são limitados a, petróleo, parafina branca mole, petrolato amarelo e glicerol.

A composição cosmética ou farmacêutica, o kit ou elemento recipiente do kit também podem ser formulados com um unguento adequado compreendendo os componentes ativos suspensos ou dissolvidos em um veículo. Tais veículos incluem, mas não são limitados a, um ou mais de glicerol, óleo mineral, óleo líquido, petróleo líquido, petróleo branco, petrolato amarelo, propileno-glicol, álcoois, triglicerídeos, ésteres de ácido graxo tais como cetil-éster, composto de polioxietileno-polioxipropileno, ceras tais como cera branca e cera amarela de abelha, álcoois de ácido graxo tais como cetil-álcool, estearil-álcool e cetil-estearil-álcool, ácidos graxos tais como ácido esteárico, estearato de cetila, lanolina, hidróxido de magnésio, caulim e água.

Alternativamente, a composição cosmética ou farmacêutica, o kit ou elemento recipiente do kit também podem ser formulados com uma loção ou creme adequada(o) compreendendo os componentes ativos suspensos ou dissolvidos em um veículo. Veículos adequados incluem, mas

não são limitados a, um ou mais de óleo mineral tal como parafina, óleos vegetais tais como óleo de rícino, óleo de semente de rícino e óleo de rícino hidrogenado, monoestearato de sorbitana, polissorbato, ésteres de ácido graxo tais como cetil-éster, cera, álcoois de ácido graxo tais como cetil-álcool, estearil-álcool, 2-octil-dodecanol, benzil-álcool, álcoois, triglicerídeos e água.

Alternativamente, a composição cosmética ou farmacêutica, o kit ou elemento recipiente do kit também pode ser formulada(o) com um gel adequado compreendendo os componentes ativos suspensos ou dissolvidos em um veículo. Veículos adequados incluem, mas não são limitados a, um ou mais de água, glicerol, propileno-glicol, parafina líquida, polietileno, óleos graxos, derivados de celulose, bentonita e dióxido de silício coloidal.

Propelentes adequados para aerossóis de acordo com a invenção são os propelentes costumeiros, por exemplo propano, butano, pentano e outros.

As preparações de acordo com a invenção geralmente podem compreender outros auxiliares que são costumeiramente usados em tais preparações, e.g. conservantes, perfumes, antiespumantes, corantes, pigmentos, espessantes, substâncias tensoativas, emulsificadores, emolientes, agentes de acabamento, gorduras, óleos, ceras ou outros constituintes costumeiros, de uma formulação cosmética ou dermatológica, tais como álcoois, polióis, polímeros, estabilizadores de espuma, promotores de solubilidade, eletrólitos, ácidos orgânicos, solventes orgânicos, ou derivados de silicone.

A composição cosmética ou farmacêutica, o kit ou elemento recipiente do kit de acordo com a invenção podem compreender emolientes. Emolientes podem ser usados em quantidades, que são eficazes para prevenir ou aliviar secura. Emolientes úteis incluem, sem limitação: óleos e ceras de hidrocarboneto; óleos de silicone; ésteres de triglicerídeo; ésteres de acetoglicerídeo; glicerídeo etoxilado; alquil-ésteres; alquenil-ésteres; ácidos

graxos; álcoois graxos; éteres de álcool graxo; éter-ésteres; lanolina e derivados; álcoois poliídricos (polióis) e derivados de poliéter; ésteres de álcool poliídrico (poliol); ésteres de cera; derivados de cera de abelha; ceras vegetais; fosfolipídeos; esteróis; e amidas.

5 Assim, por exemplo, emolientes típicos incluem óleo mineral, especialmente óleos minerais tendo uma viscosidade dentro da faixa de 50 a 500 SUS, óleo de lanolina, óleo de marta, óleo de coco, manteiga de cacau, azeite de oliva, óleo de amêndoa, óleo de noz de macadâmia, extrato de aloé, óleo de jojoba, óleo de cártamo, óleo de milho, lanolina líquida, óleo de  
10 semente de algodão, óleo de amendoim, óleo de purcelina, per-hidroesqualeno (esqualeno), óleo de rícino, polibuteno, frações destiladas minerais inodoras, óleo de amêndoa doce, óleo de abacate, óleo de calophyllum, óleo de ricina, acetato de vitamina E, azeite de oliva, frações destiladas minerais, cetearil-álcool (mistura de álcoois graxos consistindo predominantemente de  
15 cetil- e estearil-álcoois, álcool linolênico, oleil-álcool, octil-decanol, o óleo de germes de cereal tais como o óleo de octanoato de cetearila de germe de trigo (éster de cetearil-álcool e ácido 2-etil-hexanóico), palmitato de cetila, adipato de diisopropila, palmitato de isopropila, palmitato de octila, miristato de isopropila, miristato de butila, estearato de glicerila, estearato hexadecila,  
20 estearato de isocetila, estearato de octila, estearato de octil-hidroxila, estearato de propileno-glicol, estearato de butila, oleato de decila, oleato de glicerila, acetil-glicerídeos, os octanoatos e benzoatos de álcoois (C12-C15), os octanoatos e decanoatos de álcoois e poliálcoois tais como aqueles de glicol e glicerol, e ricinoleatos de álcoois e poliálcoois tais como aqueles de adipato  
25 de isopropila, laurato de hexila, dodecanoato de octila, dimeticona-copoliol, dimeticonol, lanolina, lanolina-álcool, cera de lanolina, lanolina hidrogenada, lanolina acetilada, petrolato, lanolato de isopropila, miristato de cetila, miristato de glicerila, miristato de miristila, lactato de miristila, cetil-álcool, isoestearil-álcool, estearil-álcool, e lanolato de isocetila, e assim por diante.

Além disso, a composição cosmética ou farmacêutica, o kit ou elemento recipiente do kit de acordo com a invenção também podem compreender emulsificadores. Emulsificadores (i.e., agentes de emulsificação) são preferivelmente usados em quantidades eficazes para proporcionar mistura uniforme de ingredientes da composição. Emulsificadores úteis incluem (i) aniônicos tais como sabões de ácido graxo, e.g., estearato de potássio, estearato de sódio, estearato de amônio, e estearato de trietanol-amina; monoésteres de ácido graxo-poliol contendo sabões de ácido graxo, e.g., monoestearato de glicerol contendo sal quer de sódio quer de potássio; ésteres sulfúricos (sais de sódio), e.g., lauril-5-sulfato de sódio, e cetil-sulfato de sódio; e monoésteres de poliálcool-ácido graxo contendo ésteres sulfúricos, e.g., monoestearato de glicerila contendo lauril-sulfato de sódio; (ii) cloreto de catiônicos tais como cloreto de N-(estearoil-colamino-formilmetil)-pirídio; etossulfato de N-soja-N-etil-morfolínio; cloreto de alquil-dimetil-benzil-amônio; cloreto de diisobutil-fenóxi-etil-dimetil-benzil-amônio; e cloreto de cetil-piridínio; e (iii) não iônicos tais como polioxietileno-álcool-graxo-éteres, e.g., monoestearato; polioxietileno-lauril-álcool; polioxipropileno-álcool-graxo-éteres, e.g., oleil-álcool propoxilado; ésteres de polioxietileno-ácido graxo, e.g., estearato de polioxietileno; ésteres de polioxietileno-sorbitana-ácido-graxo, e.g., monoestearato de polioxietileno-sorbitana; ésteres de sorbitana-ácido-graxo, e.g., sorbitana; ésteres de polioxietileno-glicol-ácido-graxo, e.g., monoestearato de poli(oxietileno-glicol); e ésteres de poliálcool-ácido-graxo, e.g., monoestearato de glicerila e monoestearato de propileno-glicol; e derivados de lanolina etoxilados, e.g., lanolinas etoxiladas, lanolina-álcoois etoxilados e colesterol etoxilado. A seleção de emulsificadores é exemplarmente descrita em Schrader, Grundlagen und Rezepturen der Kosmetika, Hüthig Buch Verlag, Heidelberg, 2<sup>nd</sup> edition, 1989, 3<sup>rd</sup> part.

A composição cosmética ou farmacêutica, o kit ou elemento

recipiente do kit de acordo com a invenção também podem incluir um tensoativo. Tensoativos adequados podem incluir, por exemplo, aqueles tensoativos geralmente agrupados como agentes de limpeza, agentes emulsificadores, reforçadores de espuma, hidrótropos, agentes de solubilização, agente de suspensão e não-tensoativos (facilita a dispersão de sólidos em líquidos).

Os tensoativos são normalmente classificados como tensoativos anfotéricos, aniônicos, catiônicos e não-iônicos. Tensoativos anfotéricos incluem acil-aminoácidos e derivados e N-alquil-aminoácidos. Tensoativos aniônicos incluem: acil-aminoácidos e sais, tais como acil-glutamatos, acil-peptídeos, acil-sarcosinatos, e acil-auratos; ácidos carboxílicos e sais, tais como, ácidos alcanóicos, ácidos éster-carboxílicos, e ácidos éter-carboxílicos; ácidos sulfônicos e sais; tais como acil-isetionatos, alquil-aril-sulfonatos, alquil-sulfonatos, e sulfo-succinatos; ésteres de ácido sulfúrico, tais como, alquil-éter-sulfatos e alquil-sulfatos. Tensoativos catiônicos incluem: alquil-aminas, alquil-imidazolinas, aminas etoxiladas, e quaternários (tais como sais de alquil-benzil-dimetil-amônio, alquil-betaínas, sais de amônio heterocíclicos, e sais de tetraalquil-amônio). E tensoativos não-iônicos incluem, álcoois, tais como álcoois primários contendo 8 a 18 átomos de carbono, alcanol-amidas tais como amidas derivadas de alcanol-amina e amidas etoxiladas; óxidos de amina; ésteres tais como ácidos carboxílicos etoxilados, glicerídeos etoxilados, ésteres de glicol e derivados, monoglicerídeos, poligliceril-ésteres, éteres e ésteres de álcool poliídrico, ésteres de sorbitana/sorbitol, e triésteres de ácido fosfórico; e éteres tais como álcoois etoxilados, lanolina etoxilada, polissiloxanos etoxilados, e polioxietileno-éteres propoxilados.

Ademais, uma composição farmacêutica ou cosmética ou um kit, ou elemento recipiente do kit de acordo com a invenção também podem compreender um formador de filme. Formadores de filme adequados que são

usados de acordo com a invenção mantêm a composição lisa e ainda e incluem, sem limitação: copolímero acrilamida/acrilato de sódio; copolímero de acrilatos de amônio; bálsamo do Peru; goma de celulose; copolímero de etileno/anidrido maleico; hidróxi-etil-celulose; hidróxi-propil-celulose; 5 poliacrilamida; polietileno; poli(vinil-álcool); copolímero de pvm/MA (polivinil-metil-éter/anidrido maleico); PVP (poli(vinil-pirrolidona); copolímero de anidrido maleico tal como PA-18 disponível na Gulf Science and Technology; copolímero de PVP/hexadeceno tal como Ganex V-216 disponível na GAF Corporation; copolímero de acrílico/acrilato; e assim por 10 diante.

Geralmente, formadores de filme podem ser usados em quantidades de cerca de 0,1% a cerca de 10% em peso da composição total com cerca de 1% a cerca de 8% sendo preferido e cerca de 0,1 DEG/O a cerca de 5% sendo mais preferido. Umectantes também podem ser usados em 15 quantidades eficazes, incluindo: frutose; glicose; ácido glutâmico; glicerina; mel; maltitol; metil-gluceth-10; metil-gluceth-20; propileno-glicol; lactato de sódio; sacarose; e assim por diante.

Claro que, a composição cosmética ou farmacêutica, o kit ou elemento recipiente do kit da presente invenção também podem compreender 20 um conservante. Conservantes de acordo com certas composições da invenção incluem, sem limitação: butil-parabeno; etil-parabeno; imidazolidinil-uréia; metil-parabeno; O-fenil-fenol; propil-parabeno; quatérnio-14; quatérnio-15; desidro-acetato de sódio; piritiona-zinco; e assim por diante.

Os conservantes são usados em quantidades eficazes para 25 evitar ou retardar crescimento microbiano. Geralmente, os conservantes são usados em quantidades de cerca de 0,1% a cerca de 1% em peso da composição total com cerca de 0,1% a cerca de 0,8% sendo preferido e cerca de 0,1% a cerca de 0,5% sendo mais preferido.

Uma composição cosmética ou farmacêutica, um kit ou

elemento recipiente do kit de acordo com a invenção também podem compreender um perfume. Perfumes (componentes de fragrância) e colorantes (agentes de coloração) bem conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica podem ser usados em quantidades eficazes para conceder às composições, ao kit ou elemento recipiente do kit da invenção a fragrância e a cor desejadas.

Ademais, uma composição farmacêutica ou cosmética ou um kit ou elemento recipiente do kit da presente invenção também pode compreender uma cera. Ceras adequadas que são úteis de acordo com a invenção incluem: ceras animais, tais como cera de abelha, espermacete, ou cera de lâ (lanolina); ceras de planta, tais como carnaúba ou candelila; ceras minerais, tais com cera montana ou ozoquerita; e ceras de petróleo, tais como cera de parafina e cera microcristalina (uma cera de petróleo de peso molecular alto). Ceras de animal, planta, e algumas ceras minerais são primariamente ésteres de um álcool graxo de peso molecular alto com um ácido graxo de peso molecular alto. Por exemplo, o éster de ácido hexadecanóico de tricontanol é comumente relatado como sendo um componente maior da cera de abelha. Outras ceras adequadas de acordo com a invenção incluem as ceras sintéticas incluindo ceras de polietileno polioxietileno e hidrocarboneto derivados de monóxido de carbono e hidrogênio.

Ceras representativas também incluem: cerosina; cetil-ésteres; óleo de jojoba hidrogenado; cera de jojoba hidrogenada; cera de farelo de arroz hidrogenada; cera japonesa; óleo de jojoba; cera de jojoba; cera de munk; cera de ácido montano; cera de ouricuri; cera de farelo de arroz; cera shellac; óleo de jojoba sulfurizado; cera de abelha sintética; óleos de jojoba sintéticos; tri-hidróxi-estearina; cetil-álcool; estearil-álcool; manteiga de cacau; ácidos graxos de lanolina; mono-, di- e 25 triglicerídeos que são sólidos a 25 Graus C, e.g., tribehenato de glicerila (um triéster de ácido

behênico e glicerina) e triglicerídeo de ácido C1g-C36 (uma mistura de triésteres de ácidos C1g-C36 carboxílicos e glicerina) disponível na Croda, Inc., New York, N.Y. sob os nomes comerciais Syncrowax HRC e Syncrowax HGL-C, respectivamente; ésteres graxos que são sólidos a 25 Graus C.; ceras de silicone tais como metil-octadecano-óxi-polissiloxano e poli(dimetil-silóxi)-estearóxi-siloxano; estearil mono- e dietanol-amida; breu e seus derivados tais como abietatos de glicol e glicerol; óleos hidrogenados sólidos a 25 Graus C.; e sucroglicerídeos. Espessantes (agentes de controle de viscosidade) que podem ser usados em quantidades eficazes em sistemas aquosos incluem: algina; carbômeros tais como carbômeros 934, 934P, 940 e 941; goma de celulose; cetearil-álcool, cocamida DEA, dextrina; gelatina; hidróxi-etil-celulose; hidróxi-propil-celulose; hidróxi-propil-metil-celulose; silicato de magnésio e alumínio; miristil-álcool; farinha de aveia; oleamida DEA; oleil-álcool; PEG-7M; PEG-14M; PEG-9OM; estearamida DEA; estearamida MEA; estearil-álcool; goma tragacanto; amido de trigo; goma xantana; e assim por diante. Na lista acima de espessantes, DEA é dietanol-amina, e MEA é monoetanol-amina. Espessantes (agentes de controle de viscosidade) que podem ser usados em quantidades eficazes em sistemas não-aquosos incluem estearatos de alumínio; cera de abelha; cera candelilla; carnaúba; ceresina; cetearil-álcool; cetil-álcool; colesterol; sílica hidratada; óleo de rícino hidrogenado; óleo de semente de algodão hidrogenado; óleo de feijão soja hidrogenado; glicerídeo de sebo hidrogenado; óleo vegetal hidrogenado; hidróxi-propil-celulose; lanolina-álcool; octil-dodecil-estearoil-sulfato; oleil-álcool; ozoquerita; cera microcristalina; parafina, tetraoctanoato de pentaeritritila; poliacrilamida; polibuteno; polietileno; dicaprilato de propileno-glicol; dipelargonato de propileno-glicol; estearalcônio hectorita; estearil-álcool; estearato de estearila; cera de abelha sintética; tri-hidróxi-estearina; trilinoleína; triestearina; estearato de zinco; e assim por diante.

Formadores de gel ou espessantes sintéticos e nativos

costumeiros em formulações são poli(ácidos acrílicos) reticulados e seus derivados, polissacarídeos, tais como goma xantana ou alginatos, carbóxi-metil-celulose ou hidróxi-carbóxi-metil-celulose, hidrocolóides tais como goma arábica ou minerais montmorillonita, tais como bentonitas ou álcoois graxos, poli(vinil-álcool) e poli(vinil-pirrolidona).

Outros ingredientes que podem ser adicionados ou usados em uma composição farmacêutica ou cosmética ou um kit ou elemento recipiente do kit de acordo com a invenção em quantidades eficazes para seu uso intencionado, incluem: aditivos biológicos para intensificar desempenho ou atração do consumidor tais como aminoácidos, proteínas, baunilha, extrato de aloé, bioflavinóides, e assim por diante; agentes tampão, agentes quelantes tal como EDTA; estabilizadores de emulsão; ajustadores de pH; agentes opacificantes; e propelentes tais como butano, dióxido de carbono, etano, hidro-cloro-fluoro-carbonetos 22 e 142b, hidro-fluoro-carboneto 152a, isobutano, isopentano, nitrogênio, óxido nitroso, pentano, propano, e assim por diante.

Ademais, as preparações, os kits ou elementos recipientes do kit de acordo com a invenção também podem compreender compostos que têm uma ação antioxidante, eliminadora de radicais livres, umectante de pele ou retentora de umidade, antieritematosa, antiinflamatória ou antialérgica, com o propósito de suplementar ou intensificar sua ação. Em particular, estes compostos podem ser escolhidos do grupo de vitaminas, extratos de planta, ácidos alfa- e beta-hidroxilados, ceramidas, substâncias antiinflamatórias, antimicrobianas ou filtradoras de UV, e seus derivados e suas misturas. Vantajosamente, as preparações ou kits de acordo com a invenção também podem compreender substâncias que absorvem radiação UV na região UV-B e/ou UV-A. A fase lipídica é vantajosamente escolhida do grupo de substâncias de óleos minerais, ceras minerais, hidrocarbonetos ramificados e/ou não-ramificados e ceras de hidrocarboneto, triglicerídeos de ácidos

C.sub.8-C.sub,24-alcano-carboxílicos saturados e/ou insaturados, ramificados e/ou não-ramificados; podem ser escolhidos de óleos sintéticos, semi-sintéticos ou naturais, tais como azeite de oliva, óleo de palmeira, óleo de amêndoa ou misturas; óleos, gorduras ou ceras, ésteres de ácidos C.sub.3-  
5 C.sub.30-alcano-carboxílicos saturados e/ou insaturados, ramificados e/ou não-ramificados, de ácidos carboxílicos aromáticos e C.sub.3-C.sub.30-álcoois saturados e/ou insaturados, ramificados e/ou não-ramificados, miristato de isopropila, estearato de isopropila, estearato de hexil-decila, oleato de oleíla; e também misturas sintéticas, semi-sintéticas e naturais de  
10 tais ésteres, tais como óleo de jojoba, benzoatos de alquila ou óleos de silicone, tais como, por exemplo, ciclometicona, dimetil-polissiloxano, dietilpolissiloxano, octametil-ciclo-tetrassiloxano e suas misturas ou dialquil-éteres.

Os ingredientes ativos de acordo com a invenção podem, por  
15 exemplo, ser usados em composições cosméticas para limpeza da pele, tais como sabões em barra, sabões de toalete, sabões coalhados, sabões transparentes, sabões de luxo, sabões desodorantes, sabões cremosos, sabões para bebê, sabões para proteção da pele, pastas para lavagem, lavagem líquida, preparações para ducha e banho, e.g. loções para lavagem,  
20 preparações para ducha, géis para ducha, espumas para banho, espumas cremosas para banho, óleos para banho, extratos para banho, preparações para esfregar, produtos in-situ, espumas para barbear, cremes para barbear. Em adição, são adequados para preparações cosméticas para pele, tais como cremes para corpo e pele W/O ou O/W, cremes para dia e noite, composições  
25 para proteção da luz, produtos após banho de sol; produtos para o cuidado das mãos, cremes faciais, emulsões múltiplas, géis, microemulsões, preparações de lipossomo, preparações de niossomo, cremes anti-rugas, óleos faciais, lipogéis, géis para esporte, cremes umectantes, cremes alvejantes, cremes vitaminados, loções para pele, ampolas, loções após barba, pré-barba, loções

umectantes, loções bronzeadoras, cremes para celulite, composições para despigmentação, preparações para massagem, pós para corpo, tônicos faciais, desodorantes, antiperspirantes, tiras nasais, composições anti-acne, repelentes e outros.

5 O termo “ingrediente ativo” refere-se, por exemplo, ao microorganismo de acordo com a presente invenção, mutante, derivado, forma inativa, lisado, fração ou extrato do mesmo como descrito acima. Preferivelmente, o termo “ingrediente ativo” como usado nas composições aqui abaixo é um substituto de, e.g., os microorganismos, mutantes, 10 derivados, formas inativas, lisados, frações ou extratos dos mesmos que são aqui descritos acima. Se não indicado de outro modo, o termo “ingrediente ativo” como usado nas composições descritas abaixo refere-se à percentagem de, e.g., o microorganismo de acordo com a presente invenção, mutante, derivado, forma inativa, lisado, fração ou extrato do mesmo como descrito 15 acima, na composição. Preferivelmente, o termo “ingrediente ativo” como usado nas composições descritas abaixo refere-se a uma combinação de (i) microorganismos que são capazes de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um 20 mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii) microorganismos que são capazes de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um 25 mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima. Mais precisamente, o termo “ingrediente ativo” refere-se a uma combinação de *Lactobacillus spec.* sob o aspecto (i) como definido aqui acima, e *Lactobacillus spec.* sob o aspecto (ii), como definido aqui acima, em uma concentração de e.g.  $10^2 - 10^{13}$  células

por mL. Mais precisamente, o termo “ingrediente ativo” refere-se a uma solução, e.g. uma solução aquosa ou qualquer outra solução adequada conhecida pela pessoa experiente na técnica, compreendendo até 0,001% a até 99,999% de uma combinação de *Lactobacillus spec.* sob o aspecto (i), como definido aqui acima, e *Lactobacillus spec.* sob o aspecto (ii), como definido aqui acima, em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g., uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Ainda mais precisamente, o termo refere-se a uma solução compreendendo até 0,001%, 0,01%, 0,1%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 99,9%, 99,99% ou 99,999%, muito mais preferivelmente compreendendo até 0,001 a até 5%, de uma combinação de *Lactobacillus spec.* de acordo com o aspecto (i), e *Lactobacillus spec.* de acordo com o aspecto (ii), como definido aqui acima, em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL.

Em uma modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma formulação O/W para o cuidado diário, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

20		Ingrediente ativo 1%:
	A	1,7 cetareth-6, estearil-álcool
		0,7 cetareth-25
		2,0 dietil-amino hidróxi-benzoil hexil benzoato
		2,0 PEG-14 dimeticona
25		3,6 cetearil-álcool
		6,0 metóxi-cinamato de etil-hexila
		2,0 adipato de dibutila
	B	5,0 glicerol
		1,0 pantenol

		q.s.	conservante
		68,6	água desmineralizada
	C	4,0	triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de
			acrilatos de sódio
5	D	0,2	ascorbil-fosfato de sódio
		1,0	acetato de tocoferila
		0,2	bisabolol
		1,0	triglicerídeo caprílico/cáprico, ascorbato de sódio,
			tocoferol, retinol
10		1,0	ingrediente ativo
	E	q.s.	hidróxido de sódio
			Ingrediente ativo 5%:
	A	1,7	cetearith-6, estearil-álcool
		0,7	cetearith-25
15		2,0	dietil-amino hidróxi-benzoil hexil benzoato
		2,0	PEG-14 dimeticona
		3,6	cetearil-álcool
		6,0	metóxi-cinamato de etil-hexila
		2,0	adipato de dibutila
20	B	5,0	glicerol
		1,0	pantenol
		q.s.	conservante
		64,6	água desmineralizada
	C	4,0	triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de
25			acrilatos de sódio
	D	0,2	ascorbil-fosfato de sódio
		1,0	acetato de tocoferila
		0,2	bisabolol
		1,0	triglicerídeo caprílico/cáprico, ascorbato de sódio,

tocoferol, retinol

5,0 ingrediente ativo

E q.s. hidróxido de sódio

Fases A e B são separadamente aquecidas para  
 5 aproximadamente 80°C. Fase B é subseqüentemente agitada dentro da fase A  
 e homogeneizada. Fase C é agitada dentro de uma combinação de fases A e B  
 e homogeneizada. A mistura é sob agitação esfriada para aproximadamente  
 40°C; então fase D é adicionada e o pH é ajustado com fase E para  
 aproximadamente 6,5. A solução é subseqüentemente homogeneizada e  
 10 esfriada para a temperatura ambiente.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição  
 cosmética compreende uma formulação W/O de creme para proteção diária,  
 que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com  
 a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

15

Ingrediente ativo 1%:

A 1,7 cetareth-6, estearil-álcool

0,7 cetareth-25

2,0 dietil-amino hidróxi-benzoil hexil benzoato

2,0 PEG-14 dimeticona

20

3,6 cetearil-álcool

6,0 metóxi-cinamato de etil-hexila

2,0 adipato de dibutila

B 5,0 glicerol

1,0 pantenol

25

q.s. conservante

68,8 água desmineralizada

C 4,0 triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de  
 acrilatos de sódio

D 1,0 ascorbil-fosfato de sódio

		1,0	acetato de tocoferila	
		0,2	bisabolol	
		1,0	ingrediente ativo	
	E	q.s.	hidróxido de sódio	
5			Ingrediente ativo 5%:	
	A	1,7	ceteareth-6, estearil-álcool	
		0,7	ceteareth-25	
		2,0	dietil-amino hidróxi-benzoil hexil benzoato	
		2,0	PEG-14 dimeticona	
10		3,6	cetearil-álcool	
		6,0	metóxi-cinamato de etil-hexila	
		2,0	adipato de dibutila	
	B	5,0	glicerol	
		1,0	pantenol	
15		q.s.	conservante	
		64,8	água desmineralizada	
	C	4,0	triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de acrilatos de sódio	
	D	1,0	ascorbil-fosfato de sódio	
20		1,0	acetato de tocoferila	
		0,2	bisabolol	
		5,0	ingrediente ativo	
	E	q.s.	hidróxido de sódio	

25 Fases A e B são separadamente aquecidas para aproximadamente 80°C. Fase B é subseqüentemente agitada dentro da fase A e homogeneizada. Fase C é introduzida dentro de uma combinação de fases A e B e homogeneizada. A mistura é sob agitação esfriada para aproximadamente 40°C; então fase D é adicionada e o pH é ajustado com fase E para cerca de 6,5. A solução é subseqüentemente homogeneizada e esfriada

para a temperatura ambiente.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma formulação W/O limpadora de pele, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a

5 Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

- |    |   |   |
|----|---|---|
| 10 | A | 10,0 etil-hexanoato de cetearila                                      |
|    |   | 10,0 triglicerídeo caprílico/cáprico                                  |
|    |   | 1,5 ciclo-pentassiloxano, ciclo-hexa-siloxano                         |
|    |   | 2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado                                 |
|    | B | 3,5 triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de acrilatos de sódio |
|    | C | 1,0 acetato de tocoferila   |
|    |   | 0,2 bisabolol   |
| 15 |   | q.s. conservante  |
|    |   | q.s. óleo de perfume  |
|    | D | 3,0 poliquatérnio-44  |
|    |   | 0,5 metossulfato de cocotrimônio                                      |
|    |   | 0,5 cetareth-25   |
| 20 |   | 2,0 pantenol, propileno-glicol  |
|    |   | 4,0 propileno-glicol  |
|    |   | 1,0 ingrediente ativo   |
|    |   | 60,7 água desmineralizada   |

Ingrediente ativo 5%:

- |    |   |  |
|----|---|--|
| 25 | A | 10,0 etil-hexanoato de cetearila                   |
|    |   | 10,0 triglicerídeo caprílico/cáprico               |
|    |   | 1,5 ciclo-pentassiloxano, ciclo-hexa-siloxano      |
|    |   | 2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado              |
|    | B | 3,5 triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de |

## acrilatos de sódio

	C	1,0	acetato de tocoferila
		0,2	bisabolol
		q.s.	conservante
5		q.s.	óleo de perfume
	D	3,0	poliquatérnio-44
		0,5	metossulfato de cocotrimônio
		0,5	ceteareth-25
		2,0	pantenol, propileno-glicol
10		4,0	propileno-glicol
		5,0	ingrediente ativo
		56,8	água desmineralizada

Inicialmente, fase A é dissolvida e fase B é subseqüentemente agitada em fase A. Subseqüentemente, fase C é introduzida na combinação de fases A e B. Em uma etapa seguinte, fase D é dissolvida e agitada dentro das fases combinadas A, B e C. A mistura é homogeneizada e agitada por 15 min.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma formulação de borrifo para o cuidado corporal diário, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

20

Ingrediente ativo 1%:

	A	3,0	metóxi-cinamato de etil-hexila
		2,0	dietil-amino hidróxi-benzoil hexil benzoato
		1,0	poliquatérnio-44
25		3,0	propileno-glicol
		2,0	pantenol, propileno-glicol
		1,0	ciclo-pentassiloxano, ciclo-hexa-siloxano
		10,0	octil-dodecanol
		0,5	PVP

	10,0	triglicerídeo caprílico/cáprico
	3,0	benzoato de C12-15 alquila
	3,0	glicerol
	1,0	acetato de tocoferila
5	0,3	bisabolol
	1,0	ingrediente ativo
	59,2	álcool
	Ingrediente ativo 5%:	
	A 3,0	metóxi-cinamato de etil-hexila
10	2,0	dietil-amino hidróxi-benzoil hexil benzoato
	1,0	poliquatérnio-44
	3,0	propileno-glicol
	2,0	pantenol, propileno-glicol
	1,0	ciclo-pentassiloxano, ciclo-hexa-siloxano
15	10,0	octil-dodecanol
	0,5	PVP
	10,0	triglicerídeo caprílico/cáprico
	3,0	benzoato de C12-15 alquila
	3,0	glicerol
20	1,0	acetato de tocoferila
	0,3	bisabolol
	5,0	ingrediente ativo
	55,2	álcool

Os componentes de fase A são pesados e dissolvidos até  
 25 limpidez.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um gel para pele, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

## Ingrediente ativo 1%:

	3,6	PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
	15,0	álcool
	0,1	bisabolol
5	0,5	acetato de tocoferila
	q.s.	óleo de perfume
B	3,0	pantenol
	0,6	carbômero
	1,0	ingrediente ativo
10	75,4	água desmineralizada
C	0,8	trietanol-amina

## Ingrediente ativo 5%:

	3,6	PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
	15,0	álcool
	0,1	bisabolol
15	0,5	acetato de tocoferila
	q.s.	óleo de perfume
B	3,0	pantenol
	0,6	carbômero
20	5,0	ingrediente ativo
	71,4	água desmineralizada
C	0,8	trietanol-amina

Inicialmente, fase A é dissolvida até limpidez. Fase B é macerada e subseqüentemente neutralizada com fase C. Em uma etapa seguinte, fase A é agitada dentro da fase B homogeneizada e a mistura é homogeneizada.

Em ainda uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma loção após barba, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional

## de Ingredientes Cosméticos, INCI:

## Ingrediente ativo 1%:

5	A	10,0	etil-hexanoato de cetearila
		5,0	acetato de tocoferila
		1,0	bisabolol
		0,1	óleo de perfume
		0,3	polímero cruzado de acrilatos/acrilato de C10-30
			alquila
10	B	15,0	álcool
		1,0	pantenol
		3,0	glicerol
		1,0	ingrediente ativo
		0,1	trietanol-amina
		63,5	água desmineralizada
15			Ingrediente ativo 5%:
	A	10,0	etil-hexanoato de cetearila
		5,0	acetato de tocoferila
		1,0	bisabolol
		0,1	óleo de perfume
20		0,3	polímero cruzado de acrilatos/acrilato de C10-C30-
			alquila
	B	15,0	álcool
		1,0	pantenol
		3,0	glicerol
25		5,0	ingrediente ativo
		0,1	trietanol-amina
		59,5	água desmineralizada

Os componentes de fase A são misturados. Em uma etapa seguinte, fase B é dissolvida e introduzida em fase A e subseqüentemente

homogeneizada.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma loção após banho solar, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura

5 Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 0,4 polímero cruzado de acrilatos/acrilato de C10-C30-  
alquila

15,0 etil-hexanoato de cetearila

10 0,2 bisabolol

1,0 acetato de tocoferila

q.s. óleo de perfume

B 1,0 pantenol

15,0 álcool

15 3,0 glicerol

1,0 ingrediente ativo

63,2 água desmineralizada

C 0,2 trietanol-amina

Ingrediente ativo 1%:

20 A 0,4 polímero cruzado de acrilatos/acrilato de C10-C30-  
alquila

15,0 etil-hexanoato de cetearila

0,2 bisabolol

1,0 acetato de tocoferila

25 q.s. óleo de perfume

B 1,0 pantenol

15,0 álcool

3,0 glicerol

5,0 ingrediente ativo

59,2 água desmineralizada

C 0,2 trietanol-amina

Os componentes de fase A são misturados. Fase B é introduzida em fase A e homogeneizada. A mistura é neutralizada com fase C e subseqüentemente homogeneizada.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um bálsamo para corpo, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

10	Ingrediente ativo 1%:
	A 2,0 cetareth-6, estearil-álcool
	2,0 cetareth-25
	5,0 etil-hexanoato de cetearila
	4,0 cetil-álcool
15	4,0 estearato de glicerila
	5,0 óleo mineral
	0,2 mentol
	0,5 cânfora
	B 69,3 água desmineralizada
20	q.s. conservante
	C 1,0 bisabolol
	1,0 acetato de tocoferila
	D 1,0 ingrediente ativo
	5,0 extrato de hamamélis
25	Ingrediente ativo 5%:
	A 2,0 cetareth-6, estearil-álcool
	2,0 cetareth-25
	5,0 etil-hexanoato de cetearila
	4,0 cetil-álcool

		4,0	estearato de glicerila
		5,0	óleo mineral
		0,2	mentol
		0,5	cânfora
5	B	65,3	água desmineralizada
		q.s.	conservante
	C	1,0	bisabolol
		1,0	acetato de tocoferila
	D	5,0	ingrediente ativo
10		5,0	extrato de hamamélis

Fases A e B são separadamente aquecidas para aproximadamente 80°C. Fase B é subsequente agitada dentro da fase A e homogeneizada. A mistura é sob agitação esfriada para aproximadamente 40°C; então fases C e D são adicionadas. Subseqüentemente, a mistura é homogeneizada e esfriada para a temperatura ambiente sob agitação.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma emulsão W/O com bisabolol, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

20			Ingrediente ativo 1%:
	A	6,0	PEG-7 óleo de rícino hidrogenado
		8,0	etil-hexanoato de cetearila
		5,0	miristato de isopropila
		15,0	óleo mineral
25		0,3	estearato de magnésio
		0,3	estearato de alumínio
		2,0	copolímero de PEG-45/dodecil-glicol
	B	5,0	glicerol
		0,7	sulfato de magnésio

		55,6	água desmineralizada
	C	1,0	ingrediente ativo
		0,5	acetato de tocoferila
		0,6	bisabolol
5			Ingrediente ativo 5%:
	A	6,0	PEG-7 óleo de rícino hidrogenado
		8,0	etil-hexanoato de cetearila
		5,0	miristato de isopropila
		15,0	óleo mineral
10		0,3	estearato de magnésio
		0,3	estearato de alumínio
		2,0	copolímero de PEG-45/dodecil-glicol
	B	5,0	glicerol
		0,7	sulfato de magnésio
15		51,6	água desmineralizada
	C	5,0	ingrediente ativo
		0,5	acetato de tocoferila
		0,6	bisabolol

20 Fases A e B são separadamente aquecidas para aproximadamente 85°C. Fase B é subsequente agitada dentro da fase A e homogeneizada. A mistura é sob agitação esfriada para aproximadamente 40°C; então fase C é adicionada. Subseqüentemente, a mistura é brevemente homogeneizada e esfriada para a temperatura ambiente sob agitação.

25 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um condicionador musse com agente fixador, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 10,0 copolímero de PVP/VA

	0,2	fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio
	0,2	ceteareth-25
	0,5	dimeticona copoliol
	q.s.	óleo de perfume
5	10,0	álcool
	1,0	ingrediente ativo
	68,1	água desmineralizada
	10,0	propano/butano

Ingrediente ativo 5%:

10	A	10,0	copolímero de PVP/VA
		0,2	fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio
		0,2	ceteareth-25
		0,5	dimeticona copoliol
		q.s.	óleo de perfume
15		10,0	álcool
		5,0	ingrediente ativo
		64,1	água desmineralizada
		10,0	propano/butano

Os componentes de fase A são pesados e agitados até  
20 dissolução completa. Subseqüentemente a mistura é engarrafada.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição  
cosmética compreende um condicionador musse, que pode conter, por  
exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura  
Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

25			Ingrediente ativo 1%:
	A	1,0	poliquatérnio-4
		0,5	fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio
		1,0	ingrediente ativo
		q.s.	óleo de perfume

q.s. conservante  
 91,5 água desmineralizada  
 6,0 propano/butano

Ingrediente ativo 5%:

5 A 1,0 poliquatérnio-4  
 0,5 fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio  
 5,0 ingrediente ativo  
 q.s. óleo de perfume  
 q.s. conservante  
 10 87,5 água desmineralizada  
 6,0 propano/butano

Os componentes de fase A são pesados e agitados até dissolução límpida. Subseqüentemente a mistura é engarrafada.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição  
 15 cosmética compreende um condicionador musse, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

20 A 1,0 poliquatérnio-11  
 0,5 fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio  
 1,0 ingrediente ativo  
 q.s. óleo de perfume  
 q.s. conservante  
 91,5 água desmineralizada  
 25 6,0 propano/butano

Ingrediente ativo 5%:

A 1,0 poliquatérnio-11  
 0,5 fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio  
 5,0 ingrediente ativo

q.s. óleo de perfume  
 q.s. conservante  
 87,5 água desmineralizada  
 6,0 propano/butano

5 Os componentes de fase A são pesados e agitados até dissolução límpida. Subseqüentemente a mistura é engarrafada.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura

10 Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 0,5 laureth-4  
 q.s. óleo de perfume  
 B 77,3 água desmineralizada  
 10,0 poliquatérnio-28  
 1,0 ingrediente ativo  
 0,5 dimeticona copoliol  
 0,2 cetearéth-25  
 0,2 pantenol  
 0,1 PEG-25 PABA  
 0,2 hidróxi-etil-celulose

15

20

C 10,0 HFC 152 A

Ingrediente ativo 5%:

A 0,5 laureth-4  
 q.s. óleo de perfume  
 B 73,3 água desmineralizada  
 10,0 poliquatérnio-28  
 5,0 ingrediente ativo  
 0,5 dimeticona copoliol

25

0,2 cetareth-25  
 0,2 pantenol  
 0,1 PEG-25 PABA  
 0,2 hidróxi-etil-celulose

5 C 10,0 HFC 152 A

Os componentes de fase A são misturados. Então, os componentes de fase B são sucessivamente adicionados e dissolvidos. A mistura é engarrafada com fase C.

10 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

15 A 2,0 metossulfato de cocotrimônio  
 q.s. óleo de perfume  
 B 78,5 água desmineralizada  
 6,7 copolímero de acrilatos  
 0,6 AMP  
 1,0 ingrediente ativo  
 20 0,5 dimeticona copoliol  
 0,2 cetareth-25  
 0,2 pantenol  
 0,1 PEG-25 PABA  
 0,2 hidróxi-etil-celulose

25 C 10,0 HFC 152 A

Ingrediente ativo 5%:

A 2,0 metossulfato de cocotrimônio  
 q.s. óleo de perfume  
 B 74,5 água desmineralizada

- 5
- 6,7 copolímero de acrilatos
  - 0,6 AMP
  - 5,0 ingrediente ativo
  - 0,5 dimeticona copoliol
  - 0,2 cetearth-25
  - 0,2 pantenol
  - 0,1 PEG-25 PABA
  - 0,2 hidróxi-etil-celulose
  - C 10,0 HFC 152 A
- 10 Os componentes de fase A são misturados. Então, os componentes de fase B são sucessivamente adicionados e dissolvidos. A mistura é engarrafada com fase C.
- Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por
- 15 exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:
- Ingrediente ativo 1%:
- A 2,0 metossulfato de cocotrimônio
  - q.s. óleo de perfume
- 20
- B 7,70 poliquatérnio-44
  - 1,0 ingrediente ativo
  - q.s. conservante
  - 79,3 água desmineralizada
  - C 10,0 propano/butano
- 25
- Ingrediente ativo 5%:
- A 2,0 metossulfato de cocotrimônio
  - q.s. óleo de perfume
  - B 7,70 poliquatérnio-44
  - 5,0 ingrediente ativo

q.s. conservante

75,3 água desmineralizada

C 10,0 propano/butano

Os componentes de fase A são misturados. Os componentes de fase B são dissolvidos até limpidez e subseqüentemente agitados em fase A. O pH é ajustado para 6-7. A mistura é engarrafada com fase C.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura

10 Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 2,00 metossulfato de cocotrimônio

q.s. óleo de perfume

B 72,32 água desmineralizada

15 2,00 copolímero de VP/acrilatos/metacrilato de laurila

0,53 AMP

1,00 ingrediente ativo

0,20 cetareth-25

0,50 pantenol

20 0,05 benzofenona-4

0,20 amodimeticona, cloreto de cetrimônio, trideceth-12

15,00 álcool

C 0,20 hidróxi-etil-celulose

D 6,00 propano/butano

25 Ingrediente ativo 5%:

A 2,00 metossulfato de cocotrimônio

q.s. óleo de perfume

B 68,32 água desmineralizada

2,00 copolímero de VP/acrilatos/metacrilato de laurila

- 0,53 AMP  
 5,00 ingrediente ativo  
 0,20 cetareth-25  
 0,50 pantenol  
 5 0,05 benzofenona-4  
 0,20 amodimeticona, cloreto de cetrimônio, trideceth-12  
 15,00 álcool  
 C 0,20 hidróxi-etil-celulose  
 D 6,00 propano/butano
- 10 Os componentes de fase A são misturados. Os componentes de fase B são sucessivamente adicionados e dissolvidos. Fase C é dissolvida na mistura de A e B. Subseqüentemente, o pH é ajustado para 6-7 e a mistura é engarrafada com fase D.
- Em uma outra modalidade preferida, uma composição
- 15 cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:
- Ingrediente ativo 1%:
- 20 A 2,00 cloreto de cetrimônio  
 q.s. óleo de perfume  
 B 67,85 água desmineralizada  
 7,00 poliquatérnio-46  
 1,00 ingrediente ativo  
 0,20 cetareth-25  
 25 0,50 pantenol  
 0,05 benzofenona-4  
 0,20 amodimeticona, cloreto de cetrimônio, trideceth-12  
 15,00 álcool  
 C 0,20 hidróxi-etil-celulose

D 6,00 propano/butano

Ingrediente ativo 5%:

A 2,00 cloreto de cetrimônio

q.s. óleo de perfume

5 B 63,85 água desmineralizada

7,00 poliquatérnio-46

5,00 ingrediente ativo

0,20 cetareth-25

0,50 pantenol

10 0,05 benzofenona-4

0,20 amodimeticona, cloreto de cetrimônio, trideceth-12

15,00 álcool

C 0,20 hidróxi-etil-celulose

D 6,00 propano/butano

15 Os componentes de fase A são misturados. Os componentes de fase B são sucessivamente adicionados e dissolvidos. Fase C é dissolvida na mistura de A e B. Subseqüentemente, o pH é ajustado para 6-7 e a mistura é engarrafada com fase D.

20 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A q.s. PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

q.s. óleo de perfume

25 85,5 água desmineralizada

B 7,0 poliestireno-sulfonato de sódio

1,0 ingrediente ativo

0,5 brometo de cetrimônio

q.s. conservante

C 6,0 propano/butano

Ingrediente ativo 5%:

A q.s. PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

5 q.s. óleo de perfume

81,5 água desmineralizada

B 7,0 poliestireno-sulfonato de sódio

5,0 ingrediente ativo

0,5 brometo de cetrimônio

10 q.s. conservante

C 6,0 propano/butano

Fase A é solubilizada. Então, fase B é pesada para dentro da fase A e dissolvida até limpidez. O pH é ajustado para 6-7 e a mistura é engarrafada com fase C.

15 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

20 A q.s. PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

q.s. óleo de perfume

92,0 água desmineralizada

B 0,5 poliquatérnio-10

1,0 ingrediente ativo

25 0,5 brometo de cetrimônio

q.s. conservante

C 6,0 propano/butano

Ingrediente ativo 5%:

A q.s. PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

	q.s.	óleo de perfume
	88,0	água desmineralizada
	B 0,5	poliquatérnio-10
	5,0	ingrediente ativo
5	0,5	brometo de cetrimônio
	q.s.	conservante
	C 6,0	propano/butano

10 Fase A é solubilizada. Então, fase B é pesada para dentro da fase A e dissolvida até limpidez. O pH é ajustado para 6-7 e a mistura é engarrafada com fase C.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

15	Ingrediente ativo 1%:	
	A q.s.	PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
	q.s.	óleo de perfume
	82,5	água desmineralizada
	B 10,0	poliquatérnio-16
20	1,0	ingrediente ativo
	0,5	fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio
	q.s.	conservante
	C 6,0	propano/butano
	Ingrediente ativo 5%:	
25	A q.s.	PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
	q.s.	óleo de perfume
	78,5	água desmineralizada
	B 10,0	poliquatérnio-16
	5,0	ingrediente ativo

0,5 fosfato de hidróxi-etil-cetil-dimônio

q.s. conservante

C 6,0 propano/butano

5 Fase A é solubilizada. Então, fase B é pesada para dentro da fase A e dissolvida até limpidez. O pH é ajustado para 6-7 e a mistura é engarrafada com fase C.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma espuma estilizadora, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura

10 Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 2,0 metossulfato de cocotrimônio

q.s. óleo de perfume

B 84,0 água desmineralizada

15 2,0 quitosana

1,0 ingrediente ativo

0,5 dimeticona copoliol

0,2 cetareth-25

0,2 pantenol

20 0,1 PEG-25 PABA

C 10,0 HFC 152 A

Ingrediente ativo 5%:

A 2,0 metossulfato de cocotrimônio

q.s. óleo de perfume

25 B 80,0 água desmineralizada

2,0 quitosana

5,0 ingrediente ativo

0,5 dimeticona copoliol

0,2 cetareth-25

0,2 pantenol  
 0,1 PEG-25 PABA

C 10,0 HFC 152 A

Os componentes de fase A são misturados. Os componentes de fase B são sucessivamente adicionados e dissolvidos. A mistura é engarrafada com fase C.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu para cuidado, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 30,0 laureth sulfato de sódio

6,0 cocoanfoacetato de sódio

6,0 cocoamido-propil-betaína

15 3,0 laureth sulfato de sódio, diestearato de glicol, cocamida mea, laureth-10

1,0 ingrediente ativo

7,7 poliquatérnio-44

2,0 amodimeticona

20 q.s. óleo de perfume

q.s. conservante

1,0 cloreto de sódio

43,3 água desmineralizada

B q.s. ácido cítrico

25 Ingrediente ativo 5%:

A 30,0 laureth sulfato de sódio

6,0 cocoanfoacetato de sódio

6,0 cocoamido-propil-betaína

3,0 laureth sulfato de sódio, diestearato de glicol,

cocamida mea, laureth-10

- 5,0 ingrediente ativo
- 7,7 poliquatérnio-44
- 2,0 amodimeticona
- 5 q.s. óleo de perfume
- q.s. conservante
- 1,0 cloreto de sódio
- 39,3 água desmineralizada
- B q.s. ácido cítrico

10 Os componentes de fase A são misturados e dissolvidos. O pH é ajustado para 6-7 com fase B, i.e. ácido cítrico.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um gel para ducha, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de

15 Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

- A 40,0 laureth sulfato de sódio
- 5,0 decil-glicosídeo
- 5,0 cocoamido-propil-betaína
- 20 1,0 ingrediente ativo
- 1,0 pantenol
- q.s. óleo de perfume
- q.s. conservante
- 2,0 cloreto de sódio
- 25 46,0 água desmineralizada
- B q.s. ácido cítrico

Ingrediente ativo 5%:

- A 40,0 laureth sulfato de sódio
- 5,0 decil-glicosídeo

	5,0	cocoamido-propil-betaína
	5,0	ingrediente ativo
	1,0	pantenol
	q.s.	óleo de perfume
5	q.s.	conservante
	2,0	cloreto de sódio
	42,0	água desmineralizada
	B q.s.	ácido cítrico

Os componentes de fase A são misturados e dissolvidos. O pH é ajustado para 6-7 com fase B, i.e. ácido cítrico.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

15		Ingrediente ativo 1%:
	A 40,0	laureth sulfato de sódio
	5,0	C12-15 pareth-15 sulfonato de sódio
	5,0	decil-glicosídeo
	q.s.	óleo de perfume
20	0,1	fitantriol
	44,6	água desmineralizada
	1,0	ingrediente ativo
	0,3	poliquatérnio-10
	1,0	pantenol
25	q.s.	conservante
	1,0	laureth-3
	2,0	cloreto de sódio
		Ingrediente ativo 5%:
	A 40,0	laureth sulfato de sódio

	5,0	C12-15 pareth-15 sulfonato de sódio
	5,0	decil-glicosídeo
	q.s.	óleo de perfume
	0,1	fitantriol
5	40,6	água desmineralizada
	5,0	ingrediente ativo
	0,3	poliquatérnio-10
	1,0	pantenol
	q.s.	conservante
10	1,0	laureth-3
	2,0	cloreto de sódio

Os componentes de fase A são misturados e dissolvidos. O pH é ajustado para 6-7 com ácido cítrico.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

	A	15,00	cocoamido-propil-betaína
20		10,00	cocoanfodiacetato de dissódio
		5,00	polissorbato 20
		5,00	decil-glicosídeo
		q.s.	óleo de perfume
		q.s.	conservante
25		1,00	ingrediente ativo
		0,15	cloreto de guar-hidróxi-propil-trimônio
		2,00	laureth-3
		58,00	água desmineralizada
		q.s.	ácido cítrico

B 3,00 diestearato de PEG-150

Ingrediente ativo 5%:

A 15,00 cocoamido-propil-betaína

10,00 cocoanfodiacetato de dissódio

5 5,00 polissorbato 20

5,00 decil-glicosídeo

q.s. óleo de perfume

q.s. conservante

5,00 ingrediente ativo

10 0,15 cloreto de guar-hidróxi-propil-trimônio

2,00 laureth-3

54,00 água desmineralizada

q.s. ácido cítrico

B 3,00 diestearato de PEG-150

15 Os componentes de fase A são pesados e dissolvidos. O pH é ajustado para 6-7. Então, fase B é adicionada e aquecida até 50°C. A mistura é esfriada para a temperatura ambiente sob agitação.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um creme umectante para cuidado do corpo, que pode  
20 conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 2,0 cetareth-25

2,0 cetareth-6, estearil-álcool

25 3,0 etil-hexanoato de cetearila

1,0 dimeticona

4,0 cetearil-álcool

3,0 estearato de glicerila SE

5,0 óleo mineral

		4,0	óleo de semente de <i>Simmondsia chinensis</i> (jojoba)
		3,0	óleo mineral, lanolina-álcool
	B	5,0	propileno-glicol
		1,0	ingrediente ativo
5		1,0	pantenol
		0,5	silicato de alumínio e magnésio
		q.s	conservante
		65,5	água desmineralizada
	C	q.s.	óleo de perfume
10	D	q.s.	ácido cítrico
			Ingrediente ativo 5%:
	A	2,0	cetareth-25
		2,0	cetareth-6, estearil-álcool
		3,0	etil-hexanoato de cetearila
15		1,0	dimeticona
		4,0	cetearil-álcool
		3,0	estearato de glicerila se
		5,0	óleo mineral
		4,0	óleo de semente de <i>Simmondsia chinensis</i> (jojoba)
20		3,0	óleo mineral, lanolina-álcool
	B	5,0	propileno-glicol
		5,0	ingrediente ativo
		1,0	pantenol
		0,5	silicato de alumínio e magnésio
25		q.s	conservante
		61,5	água desmineralizada
	C	q.s.	óleo de perfume
	D	q.s.	ácido cítrico
			Fases A e B são separadamente aquecidas para

aproximadamente 80°C. Fase B é brevemente pré-homogeneizada. Subseqüentemente fase B é agitada em fase A e homogeneizada. A mistura é esfriada para aproximadamente 40°C; então fase C é adicionada. Subseqüentemente, a mistura é bem homogeneizada. O pH é ajustado para 6-7 com fase D, i.e. ácido cítrico.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um creme umectante para cuidado do corpo, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

10		Ingrediente ativo 1%:
	A	6,0 PEG-7 óleo de rícino hidrogenado
		10,0 etil-hexanoato de cetearila
		5,0 miristato de isopropila
		7,0 óleo mineral
15		0,5 manteiga de shea ( <i>Butyrospermum parkii</i> )
		0,5 estearato de alumínio
		0,5 estearato de magnésio
		0,2 bisabolol
		0,7 quatérnio-18-hectorita
20	B	5,0 dipropileno-glicol
		0,7 sulfato de magnésio
		q.s. conservante
		62,9 água desmineralizada
	C	q.s. óleo de perfume
25		1,0 ingrediente ativo
		Ingrediente ativo 5%:
	A	6,0 PEG-7 óleo de rícino hidrogenado
		10,0 etil-hexanoato de cetearila
		5,0 miristato de isopropila

	7,0	óleo mineral
	0,5	manteiga de shea ( <i>Butyrospermum parkii</i> )
	0,5	estearato de alumínio
	0,5	estearato de magnésio
5	0,2	bisabolol
	0,7	quatérnio-18-hectorita
B	5,0	dipropileno-glicol
	0,7	sulfato de magnésio
	q.s.	conservante
10	58,9	água desmineralizada
C	q.s.	óleo de perfume
	5,0	ingrediente ativo

Fases A e B são separadamente aquecidas para aproximadamente 80°C. Fase B é agitada em fase A e homogeneizada. A mistura é esfriada sob agitação para aproximadamente 40°C; então fase C é adicionada. Subseqüentemente, a mistura é homogeneizada. A mistura é esfriada para a temperatura ambiente sob agitação.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um agente de antitranspiração aplicado por esfera rolante, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

	Ingrediente ativo 1%:	
	A	0,40 hidróxi-etil-celulose
		50,0 água desmineralizada
25	B	25,0 álcool
		0,1 bisabolol
		0,3 farnesol
		2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado q.s. óleo de perfume

- 5 C 3,0 dipropileno-glicol  
 3,0 PEG-14 dimeticona  
 3,0 poliquatérnio-16  
 8,2 água desmineralizada
- D 1,0 ingrediente ativo
- Ingrediente ativo 5%:
- A 0,40 hidróxi-etil-celulose  
 46,0 água desmineralizada
- 10 B 25,0 álcool  
 0,1 bisabolol  
 0,3 farnesol  
 2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado q.s. óleo de perfume
- 15 C 3,0 dipropileno-glicol  
 3,0 PEG-14 dimeticona  
 3,0 poliquatérnio-16  
 8,2 água desmineralizada
- D 5,0 ingrediente ativo
- 20 Fase A é inchada, fases B e C são solubilizadas independentemente. Subseqüentemente, fases B e A são agitadas em fase C. Finalmente, fase D é adicionada.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um bastão desodorante transparente, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

- A 3,0 cetareth-25  
 3,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado  
 0,2 bisabolol rac.

- 5
- 1,0 acetato de tocoferila
  - 3,0 óleo de perfume
  - 5,0 estearato de sódio
  - 15,0 glicerol 87%
  - 60,0 propileno-glicol
  - 9,3 água desmineralizada
  - B 1,0 ingrediente ativo
- Ingrediente ativo 5%:
- 10
- A 3,0 cetearth-25
  - 3,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
  - 0,2 bisabolol rac.
  - 1,0 acetato de tocoferila
  - 3,0 óleo de perfume
  - 5,0 estearato de sódio
- 15
- 15,0 glicerol 87%
  - 60,0 propileno-glicol
  - 5,3 água desmineralizada
  - B 5,0 ingrediente ativo
- Componentes de fase A são pesados e fundidos.
- 20 Subseqüentemente, fase B é adicionada.
- Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um borrifo de antitranspiração, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:
- 25
- Ingrediente ativo 1%:
- A 3,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
  - 0,2 fitantriol
  - 0,5 óleo de perfume
  - 40,0 álcool

- 5                    B   53,49 água desmineralizada  
                       2,0 propileno-glicol  
                       0,5 pantenol  
                       0,01 BHT
- C   1,0 ingrediente ativo
- Ingrediente ativo 5%:
- A   3,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado  
                           0,2 fitantriol  
                           0,5 óleo de perfume
- 10                    40,0 álcool
- B   49,49 água desmineralizada  
                           2,0 propileno-glicol  
                           0,5 pantenol  
                           0,01 BHT
- 15                    C   5,0 ingrediente ativo

Fase A é solubilizada. Em uma etapa seguinte os componentes de fase B são adicionados sucessivamente. Finalmente, fase C é adicionada.

- Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um bastão desodorante, que pode conter, por exemplo,
- 20 os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

- Ingrediente ativo 1%:
- A   26,0 estearil-álcool  
                           60,0 ciclo-pentassiloxano, ciclo-hexa-siloxano
- 25                    5,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado  
                           2,5 palmitato de isopropila
- B   1,44 óleo de perfume  
                           0,05 BHT
- C   1,0 ingrediente ativo

Ingrediente ativo 5%:

- 5
- A 26,0 estearil-álcool
  - 56,0 ciclo-pentassiloxano, ciclo-hexa-siloxano
  - 5,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
  - 2,5 palmitato de isopropila
  - B 1,44 óleo de perfume
  - 0,05 BHT
  - C 5,0 ingrediente ativo

10 Os componentes de fase A são pesados e fundidos. Fase A é subsequente-mente esfriada enquanto misturando para cerca de 50°C. Os componentes de fase B e C são homogeneizados e adicionados sucessivamente.

15 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um desodorante transparente aplicado por esfera rolante, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

- 20
- A 0,40 hidróxi-etil-celulose
  - 50,0 água desmineralizada
  - B 2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
  - 0,1 bisabolol
  - 0,3 farnesol
  - 0,5 óleo de perfume
  - 7,6 água desmineralizada
  - 25 25,0 álcool
  - C 3,0 propileno-glicol
  - 3,0 PEG-14 dimeticona
  - 3,0 poliquatérnio-16
  - 0,1 alantoína

D 1,0 ingrediente ativo

Ingrediente ativo 5%:

A 0,40 hidróxi-etil-celulose

46,0 água desmineralizada

5 B 2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

0,1 bisabolol

0,3 farnesol

0,5 óleo de perfume

7,6 água desmineralizada

10 25,0 álcool

C 3,0 propileno-glicol

3,0 PEG-14 dimeticona

3,0 poliquatérnio-16

0,1 alantoína

15 D 5,0 ingrediente ativo

Fase A é inchada, fase B é solubilizada. Subseqüentemente, fase C é adicionada e agitada. Finalmente, fases B, C e D são agitadas em fase A.

20 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma emulsão, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 1,5 cetareth-6, estearil-álcool

25 2,0 cetareth-25

5,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

1,5 estearato de glicerila

1,0 cetearil-álcool

0,5 Eucerinum anhydricum

		0,2	fitantriol
		1,0	palmitato de cetila
		5,0	dicaprilil-éter
		0,3	farnesol
5	B	q.s.	conservante
		72,0	água desmineralizada
	C	q.s.	óleo de perfume
	D	1,0	ingrediente ativo:
			Ingrediente ativo 5%:
10	A	1,5	ceteareth-6, estearil-álcool
		2,0	ceteareth-25
		5,0	PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
		1,5	estearato de glicerila
		1,0	cetearil-álcool
15		0,5	Eucerinum anhydricum
		0,2	fitantriol
		1,0	palmitato de cetila
		5,0	dicaprilil-éter
		0,3	farnesol
20	B	q.s.	conservante
		68,0	água desmineralizada
	C	q.s.	óleo de perfume
	D	5,0	ingrediente ativo:

25 Fases A e B são aquecidas separadamente para aproximadamente 80°C. Fase B é agitada em fase A e homogeneizada por 3 minutos. Subseqüentemente, a mistura é esfriada para 40°C e fases C e D são adicionadas. Finalmente, a mistura é agitada e esfriada para a temperatura ambiente.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição

cosmética compreende um borrifo desodorante aplicado por bomba, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

5	A	5,0	PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
		0,3	PEG-7 óleo de rícino hidrogenado
		1,0	estearato de glicerila
		1,0	cetearil-álcool
		5,0	ciclo-pentassiloxano
10		0,5	Eucerinum anhydricum
		0,2	fitantriol
		5,0	dicaprilil-éter
		0,3	farnesol
	B	q.s.	conservante
15		76,7	água desmineralizada
	C	q.s.	óleo de perfume
	D	1,0	ingrediente ativo

Ingrediente ativo 5%:

20	A	5,0	PEG-40 óleo de rícino hidrogenado
		0,3	PEG-7 óleo de rícino hidrogenado
		1,0	estearato de glicerila
		1,0	cetearil-álcool
		5,0	ciclo-pentassiloxano
		0,5	Eucerinum anhydricum
25		0,2	fitantriol
		5,0	dicaprilil-éter
		0,3	farnesol
	B	q.s.	conservante
		72,7	água desmineralizada

C q.s. óleo de perfume

D 5,0 ingrediente ativo

Fases A e B são aquecidas separadamente para aproximadamente 80°C. Fase B é homogeneizada e agitada em fases A e C.  
5 Subseqüentemente, a mistura é esfriada para 40°C e fase D é adicionada. Finalmente, a mistura é agitada e esfriada para temperatura ambiente.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma loção desodorante, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional  
10 de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingrediente ativo 1%:

A 1,5 cetareth-6, estearil-álcool

1,5 cetareth-25)

2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

15 2,0 estearato de glicerila

2,0 cetearil-álcool

2,0 cetil-álcool

2,0 coco-glicerídeos hidrogenados

8,0 oleato de decila

20 0,5 PEG-14 dimeticona

0,3 farnesol

B q.s. conservante

75,2 água desmineralizada

C q.s. óleo de perfume

25 D 1,0 ingrediente ativo 1%:

Ingrediente ativo 5%:

A 1,5 cetareth-6, estearil-álcool

1,5 cetareth-25

2,0 PEG-40 óleo de rícino hidrogenado

	2,0	estearato de glicerila
	2,0	cetearil-álcool
	2,0	cetil-álcool
	2,0	coco-glicerídeos hidrogenados
5	8,0	oleato de decila
	0,5	PEG-14 dimeticona
	0,3	farnesol
	B q.s.	conservante
	71,2	água desmineralizada
10	C q.s.	óleo de perfume
	D 5,0	ingrediente ativo 1%:

Fases A e B são aquecidas separadamente para aproximadamente 80°C. Fase B é homogeneizada e agitada em fase A. Subseqüentemente, a mistura é esfriada para 40°C e fases C e D são adicionadas. Finalmente, a mistura é agitada e esfriada para temperatura ambiente.

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma loção desodorante, tipo O/W, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

	Ingrediente ativo 1%:	
	A 2,0	ceteareth-6, estearil-álcool
		2,0 ceteareth-25
		4,0 etil-hexanoato de cetearila
25		2,0 cetearil-álcool
		2,0 coco-glicerídeos hidrogenados
		1,0 estearato de glicerila
		1,0 óleo mineral
		0,5 dimeticona

		0,2	bisabolol		
	B	2,0	pantenol, propileno-glicol		
		2,0	propileno-glicol		
		q.s.	conservante		
5		79,8	água desmineralizada		
	C	1,2	triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de acrilatos de sódio		
	D	0,2	tocoferol		
		q.s.	óleo de perfume		
10	E	1,0	ingrediente ativo:		
			Ingrediente ativo 5%:		
	A	2,0	ceteareth-6, estearil-álcool		
		2,0	ceteareth-25		
		4,0	etil-hexanoato de cetearila		
15		2,0	cetearil-álcool		
		2,0	coco-glicerídeos hidrogenados		
		1,0	estearato de glicerila		
		1,0	óleo mineral		
		0,5	dimeticona		
20		0,2	bisabolol		
	B	2,0	pantenol, propileno-glicol		
		2,0	propileno-glicol		
		q.s.	conservante		
		75,8	água desmineralizada		
25	C	1,2	triglicerídeo caprílico/cáprico, copolímero de acrilatos de sódio		
	D	0,2	tocoferol		
		q.s.	óleo de perfume		
	E	5,0	ingrediente ativo:		

Fases A e B são aquecidas separadamente para aproximadamente 80°C. Subseqüentemente, fase C é agitada em fases A e B e homogeneizada. Finalmente, a mistura é esfriada para 40°C e fases D e E são adicionadas.

5 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu transparente, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>	<b>Exemplo 4</b>	<b>Exemplo 5</b>
laureth sulfato de sódio	13,00	15,00	10,50	12,50	10,00
cocoamido-propil-betaina	7,50	7,00	5,00	5,50	10,00
cocoato de PEG-7 glicerila	2,00	2,50	3,50	5,00	2,30
óleo de perfume	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
ingrediente ativo	1,0	5,0	0,1	0,5	10,0
D-pantenol USP	1,00	1,50	1,80	1,70	1,40
conservante	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
ácido cítrico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
luviquat ultra care	1,50	1,00	1,50	1,20	1,10
cloreto de sódio	1,50	1,40	1,40	1,30	1,50
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

10 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>	<b>Exemplo 4</b>	<b>Exemplo 5</b>
laureth sulfato de sódio	35,00	40,00	30,00	45,00	27,00
decil-glicosídeo	5,00	5,50	4,90	3,50	7,00
cocoamido-propil-betaina	10,00	5,00	12,50	7,50	15,00
óleo de perfume	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
ingrediente ativo	1,0	5,0	0,1	0,5	10,0
d-pantenol usp	0,50	1,00	0,80	1,50	0,50
conservante	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
ácido cítrico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
laureth-3	0,50	2,00	0,50	0,50	2,00
cloreto de sódio	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

15 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu condicionador transparente, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>	<b>Exemplo 4</b>	<b>Exemplo 5</b>
cocoanfodiacetato de dissódio	10,00	15,00	20,00	12,00	17,00
decil-glicosídeo	5,00	6,00	7,00	8,00	4,00
cocoamido-propil-betaína	15,00	12,00	10,00	18,00	20,00
Luviquat FC 550	0,30	0,20	0,20	0,20	0,30
óleo de perfume	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
ingrediente ativo	20,0	5,0	1,0	0,5	10,0
cremophor PS 20	5,00	1,00	1,00	7,00	5,00
conservantee	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
laureth-3	2,00	1,00	0,50	2,00	2,00
ácido cítrico	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
diestearato de PEG-12	3,00	2,00	2,00	3,00	2,50
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma emulsão W/O espumante, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo1</b>		<b>Exemplo 2</b>	
	<b>P. -%</b>	<b>Vol-%</b>	<b>P. -%</b>	<b>Vol-%</b>
ácido esteárico	5,00		1,00	
cetil-álcool	5,50			
cetearil-álcool			2,00	
estearato de PEG-40	8,50			
estearato de PEG-20			1,00	
triglicerídeo caprílico/cáprico	4,00		2,00	
benzoato de C12-15 alquila	10,00		15,00	
ciclometicona	4,00			
dimeticona			0,50	
ingrediente ativo	5,0		10,0	
isoestearato de etil-hexila			5,00	
miristato de miristila			2,00	
ceresina	1,50			
glicerol			3,00	
amido-fosfato de hidróxi-propila	1,00		3,50	
BHT			0,02	
óleo de perfume, conservante	q.s.		q.s.	
colorante	q.s.		q.s.	
hidróxido de potássio	q.s.		q.s.	
água desmineralizada	ad 100		ad 100	
	pH ajustado para 6,5-7,5		pH ajustado para 5,0-6,0	
emulsão 1		70		
emulsão 2				35
nitrogênio		30		
propano/butano				65

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu condicionador com brilho de pérola, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>
poliquatérnio-10	0,50	0,50	0,40
laureth sulfato de sódio	9,00	8,50	8,90
cocoamido-propil-betaina	2,50	2,60	3,00
Uvinul® MS 40	1,50	0,50	1,00
ingrediente ativo	1,0	5,0	0,5
solução de brilho de pérola	2,00	2,50	
conservante, óleo de perfume, espessante	q.s.	q.s.	q.s.
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100
pH ajustado para 6,0			

5 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu condicionador transparente, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>
poliquatérnio-10	0,50	0,50	0,50
laureth sulfato de sódio	9,00	8,50	9,50
ingrediente ativo	5,0	0,1	3,0
Uvinul M® 40	1,00	1,50	0,50
	0,20	0,20	0,80
conservante, óleo de perfume, espessante	q.s.	q.s.	q.s.
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100
pH ajustado para 6,0			

10 Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um xampu condicionador transparente com efeito de volume, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>
laureth sulfato de sódio	10,00	10,50	11,00
Uvinul® MC 80	2,00	1,50	2,30
ingrediente ativo	10,0	0,1	0,5
cocoamido-propil-betaina	2,50	2,60	2,20
conservante, óleo de perfume, espessante	q.s.	q.s.	q.s.
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100
pH ajustado para 6,0			

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um gel creme, que pode conter, por exemplo, os

seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingredientes (em %)	Exemplo1	Exemplo 2	Exemplo 3	Exemplo 4
polímero cruzado de acrilatos / acrilato de C10-30 alquila	0,40	0,35	0,40	0,35
carbômero	0,20	0,22	0,20	0,22
goma xantana	0,10	0,13	0,10	0,13
cetearil-álcool	3,00	2,50	3,00	2,50
benzoato de C12-15 alquila	4,00	4,50	4,00	4,50
triglicerídeo caprílico/cáprico	3,00	3,50	3,00	3,50
Uvinul® A Plus™	2,00	1,50	0,75	1,00
UvaSorb® k2A Etil-hexil-Bis-Isopentil-benzoxazolil-fenil-Melamina		3,00		
Uvinul® MC 80	3,00		1,00	
bis-etil-hexil-óxi-fenol-metóxi-fenil triazina		1,50		2,00
butil metóxi-dibenzoil-metano			2,00	
fenil dibenzimidazol- tetrassulfonato de dissódio	2,50		0,50	2,00
Uvinul® T 150	4,00		3,00	4,00
ortocrileno		4,00		
dietil-hexil butamido triazona	1,00			2,00
ácido fenil-benzimidazol-sulfônico	0,50		3,00	
metileno-bis-benzotriazolil-tetrametil-butil-fenol	2,00		0,50	1,50
salicilato de etil-hexila			3,00	
drometrisol trissiloxano			0,50	
ácido tetraftalideno-dicânfora-sulfônico		1,50		1,00
dietil-hexil 2,6-naftalato	3,50	4,00	7,00	9,00
dióxido de titânio - microfino	1,00		3,00	
óxido de zinco - microfino				0,25
ingrediente ativo	0,1	0,5	1,0	0,02
cicloteticona	5,00	5,50	5,00	5,50
dimeticona	1,00	0,60	1,00	0,60
glicerol	1,00	1,20	1,00	1,20
hidróxido de sódio	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
conservante	0,30	0,23	0,30	0,23
óleo de perfume	0,20		0,20	
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100
pH ajustado para 6,0				

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma hidrodispersão, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingredientes (em %)	Exemplo 1	Exemplo 2	Exemplo 3	Exemplo 4	Exemplo 5
ceteareth-20	1,00			0,50	
cetil-álcool			1,00		
carbômero sódico		0,20		0,30	
polímero cruzado de acrilatos/acrilato de C10-C30-alquila	0,50		0,40	0,10	0,50
goma xantana		0,30	0,15		
ingrediente ativo	5,0	0,5	3,0	0,1	10,0
Uvinul® A Plus™	2,00	1,50	0,75	1,00	2,10
UvaSorb® k2A etil-hexil bis-isopentil-		3,50			

benzoxazolil-fenil-melanina					
metóxi-cinamato de etil-hexila Uvinul® MC 80					5,00
bis-etil-hexil-óxi-fenol-metóxi-fenil triazina		1,50		2,00	2,50
butil-metóxi-dibenzoil-metano			2,00		2,00
fenil-dibenzimidazol-tetrassulfonato de dissódio	2,50		0,50	2,00	
etil-hexil-triazona Uvinul® T 150	4,00		3,00	4,00	
ortocrileno		4,00			
dietil-hexil butamido triazona	1,00			2,00	1,00
ácido fenil-benzimidazol-sulfônico	0,50		3,00		
metileno-bis-benzotriazolil-tetrametil-butil-fenol	2,00		0,50	1,50	2,50
salicilato de etil-hexila			3,00		
drometrisol-trissiloxano			0,50		
ácido tetraftalideno-dicânfora-sulfônico		1,50		1,00	1,00
dietil-hexil 2,6-naftalato			7,00		9,00
dióxido de titânio - microfino	1,00		3,00		3,50
óxido de zinco - microfino				0,25	
benzoato de C12-15 alquila	2,00	2,50			
dicapril-éter		4,00			
dicaprato/dicaprilato de butileno-glicol	4,00		2,00	6,00	
carbonato de dicaprila		2,00	6,00		
dimeticona		0,50	1,00		
fenil-trimeticona	2,00		0,50		
Butyrospermum parkii (manteiga shea)		2,00		5,00	
copolímero de VP/hexadeceno	0,50			0,50	1,00
tricontanil PVP	0,50		1,00		
etil-hexil-glicerol			1,00		0,80
glicerol	3,00	7,50		7,50	8,50
óleo de glicina soja (feijão-soja)			1,50		1,00
acetato de vitamina E	0,50		0,25		1,00
glicosil-rutina	0,60			0,25	
goma-1 de biossacarideo		2,50	0,50		2,00
DMDM hidantoina		0,60	0,45	0,25	
iodo-propinil-butil-carbamato	0,20				
metil-parabeno	0,50		0,25	0,15	
fenóxi-etanol	0,50	0,40		1,00	
etanol	3,00	2,00	1,50		7,00
óleo de perfume	0,20		0,05	0,40	
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um bastão, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingredientes (em %)	Exemplo 1	Exemplo 2	Exemplo 3	Exemplo 4
triglicérido caprílico/cáprico	12,00	10,00	6,00	
octil-dodecanol	7,00	14,00	8,00	3,00
dicaprato/dicaprilato de butileno-glicol				12,00
tetraoestearato de pentaeritritila	10,00	6,00	8,00	7,00
poligliceril-3 diisoestearato	2,50			
bis-digliceril poliaciladipato-2-2	9,00	8,00	10,00	8,00
cetearil-álcool	8,00	11,00	9,00	7,00
miristato de miristila	3,50	3,00	4,00	3,00
cera de abelha	5,00	5,00	6,00	6,00
cera de Copernicia cerifera (carnaúba)	1,50	2,00	2,00	1,50
cera alba	0,50	0,50	0,50	0,40
estearato de C16-40 alquila		1,50	1,50	1,50
ingrediente ativo	0,5	3,0	1,0	5,0
Uvinul® A Plus™	2,00	1,50	0,75	9,00
UvaSorb® k2A etil-hexil-bis-isopentil-benzoxazolil-fenil-melamina		2,00		4,00
metóxi-cinamato de etil-hexila Uvinul® MC 80		3,00		
bis-etil-hexil-óxi-fenol-metóxi-fenil triazina		1,50		2,00
butil-metóxi-dibenzoil-metano			2,00	
fenil-dibenzimidazol-tetrassulfonato de dissódio	2,50		0,50	2,00
etil-hexil-triazona Uvinul® T 150	4,00		3,00	4,00
ortocrileno		4,00		
dietil-hexil butamido triazona	1,00			2,00
ácido fenil-benzimidazol-sulfônico	0,50		3,00	
metileno-bis-benzotriazolil-tetrametil-butil-fenol	2,00		0,50	1,50
salicilato de etil-hexila			3,00	
drometrisol-trissiloxano			0,50	
ácido tetraftalideno-dicânfora-sulfônico		1,50		1,00
dietil-hexil 2,6-naftalato			7,00	
dióxido de titânio - microfino	1,00		3,00	
óxido de zinco - microfino				0,25
acetato de vitamina E	0,50	1,00		
palmitato de ascorbila	0,05		0,05	
óleo de Buxux chinensis (jojoba)	2,00	1,00		1,00
óleo de perfume, BHT	0,10	0,25		0,35
óleo de Ricinus communis (ricino)	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma emulsão PIT, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingredientes (em %)	Ex. 1	Ex. 2	Ex. 3	Ex. 4	Ex. 5	Ex. 6	Ex. 7	Ex. 8
monoestearato de glicerila SE	0,50	2,00	3,00	5,00		0,50	4,00	
isoestearato de glicerila					3,50	4,00	2,00	
isoceteth-20		0,50			2,00			
ceteareth-12		5,00		1,00			3,50	5,00
ceteareth-20		5,00		1,00				3,50
estearato de PEG-100				2,80		2,30	3,30	
cetil-álcool	5,20		1,20	1,00	1,30		0,50	0,30
palmitato de cetila	2,50	1,20		1,50		0,50		1,50
cetil-dimeticona copoliol				0,50		1,00		
poligliceril-2-dioleato				0,75	0,30			
ingrediente ativo	0,1	5,0	0,01	0,5	3,0	0,25	10,0	3,0
Uvinul® A Plus™	2,00	1,50	0,75	1,00	2,10	4,50	5,00	2,10
UvaSorb® k2A Etil-hexil-Bis-Isopentil-benzoxazolil-fenil-Melamina			4,00				1,50	
metóxi-cinamato de etil-hexila Uvinul® MC 80					5,00	6,00	8,00	5,00
bis-etil-hexil-óxi-fenol-metóxi-fenil triazina		1,50		2,00	2,50		2,50	2,50
butil metóxi-dibenzoil-metano			2,00		2,00	1,50		2,00
fenil-dibenzimidazol-tetrassulfonato de dissódio	2,50		0,50	2,00		0,30		
etil-hexil-triazona Uvinul® T 150	4,00		3,00	4,00		2,00		
ortocrileno		4,00					7,50	
dietil-hexil butamido triazona	1,00			2,00	1,00		1,00	1,00
ácido fenil-benzimidazol-sulfônico	0,50		3,00					
metileno-bis-benzotriazolil-tetrametil-butil-fenol	2,00		0,50	1,50	2,50			2,50
salicilato de etil-hexila			3,00				5,00	
drometrisol-trissiloxano			0,50			1,00		
ácido tereftalilideno-dicânfora-sulfônico		1,50		1,00	1,00		0,50	1,00
dietil-hexil 2,6-naftalato			7,00		10,00	7,50		8,00
dióxido de titânio - microfino	1,00		3,00		3,50		1,50	3,50
óxido de zinco - microfino				0,25		2,00		
benzoato de C12-15 alquila	3,50			6,35				0,10
cocoglicerideo		3,00		3,00				1,00
dicapril-éter	4,50							
carbonato de dicaprilila		4,30		3,00				7,00
adipato de dibutila				0,50				0,30
fenil-trimeticona	2,00			3,50		2,00		
ciclometicona		3,00						
C1-5 alquil-galactomanana		0,50			2,00			
coco-glicerídeos hidrogenados					3,00	4,00		

behenóxi-dimeticona						1,50	2,00	
copolímero de VP/hexadeceno				1,00	1,20			
glicerol	4,00	6,00	5,00		8,00	10,00		
acetato de vitamina E	0,20	0,30	0,40		0,30			
Butyrospermum parkii (manteiga shea)		2,00		3,60		2,00		
butil-carbamato de iodo-propila	0,12				0,20			
goma-1 de biossacarídeo				0,10				
DMDM hidantoína	0,10				0,12		0,13	
metil-parabeno		0,50	0,30		0,35			
fenóxi-etanol	0,50	0,40		1,00				
etil-hexil-glicerol		0,30			1,00		0,35	
etanol	2,00		2,00			5,00		
óleo de perfume	0,20		0,20		0,24	0,16	0,10	0,10
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um gel creme, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingredientes (em %)	Exemplo 1	Exemplo 2	Exemplo 3	Exemplo 4
polímero cruzado de acrilatos / acrilato de C10-30 alquila	0,40	0,35	0,40	0,35
carbômero	0,20	0,22	0,20	0,22
Luvigel® EM	1,50	2,50	2,80	3,50
goma xantana	0,10	0,13	0,10	0,13
cetearil-álcool	3,00	2,50	3,00	2,50
benzoato de C12-15 alquila	4,00	4,50	4,00	4,50
triglicerídeo caprílico/cáprico	3,00	3,50	3,00	3,50
dióxido de titânio - microfino	1,00		1,50	
óxido de zinco - microfino		2,00		0,25
ingrediente ativo	0,5	10,0	3,0	5,0
di-hidróxi-acetona			3,00	5,00
cicloteticona	5,00	5,50	5,00	5,50
dimeticona	1,00	0,60	1,00	0,60
glicerol	1,00	1,20	1,00	1,20
hidróxido de sódio	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
conservante	0,30	0,23	0,30	0,23
óleo de perfume	0,20		0,20	
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100
pH ajustado para 6,0				

5

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma hidrodispersão após banho solar, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>	<b>Exemplo 4</b>	<b>Exemplo 5</b>
ceteareth-20	1,00			0,50	
cetil-álcool			1,00		
Luvigel® EM		2,00		2,50	2,00
polímero cruzado de acrilatos/acrilato de C10-C30-alquila	0,50	0,30	0,40	0,10	0,50
goma xantana		0,30	0,15		
ingrediente ativo	0,1	5,0	0,5	3,0	1,0
benzoato de C12-15 alquila	2,00	2,50			
dicapril-éter		4,00			
dicaprato/dicaprilato de butileno-glicol	4,00		2,00	6,00	
carbonato de dicaprila		2,00	6,00		
dimeticona		0,50	1,00		
fenil-trimeticona	2,00		0,50		
tricontanil pvp	0,50		1,00		
etil-hexil-glicerol			1,00		0,80
glicerol	3,00	7,50		7,50	8,50
óleo de glicina soja (feijão-soja)			1,50		1,00
acetato de vitamina E	0,50		0,25		1,00
glicosil-rutina	0,60			0,25	
etanol	15,00	10,00	8,00	12,00	9,00
óleo de perfume	0,20		0,05	0,40	
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma emulsão W/O, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>	<b>Exemplo 4</b>	<b>Exemplo 5</b>
cetil-dimeticona		2,50		4,00	
poligliceril-2 dipoli-hidróxi-estearato	5,00				4,50
PEG30 dipoli-hidróxi-estearato			5,00		
ingrediente ativo	5,0	10,0	0,1	0,5	1,0
Uvinul® A Plus™	2,00	1,50	0,75	1,00	2,10
dióxido de titânio - microfino	1,00		3,00		3,50
óxido de zinco - microfino		0,90		0,25	
óleo mineral		12,00	10,00		8,00
benzoato de C12-15 alquila				9,00	
dicaprilil-éter	10,00				7,00
dicaprato/dicaprilato de butileno-glicol			2,00	8,00	4,00
carbonato de dicaprilila	5,00		6,00		
dimeticona		4,00	1,00	5,00	
ciclometicona	2,00	25,00			2,00
Butyrospermum parkii (manteiga shea)			3,00		

petrolato		4,50			
copolímero de VP/hexadeceno	0,50			0,50	1,00
etil-hexil-glicerol		0,30	1,00		0,50
glicerol	3,00	7,50		7,50	8,50
óleo de glicina soja (feijão-soja)		1,00	1,50		1,00
sulfato de magnésio	1,00	0,50		0,50	
cloreto de magnésio			1,00		0,70
acetato de vitamina E	0,50		0,25		1,00
palmitato de ascorbila	0,50			2,00	
goma-1 de biossacarídeo				3,50	7,00
DMDM hidantoína		0,60	0,40	0,20	
metil-parabeno	0,50		0,25	0,15	
fenóxi-etanol	0,50	0,40		1,00	
etanol	3,00		1,50		5,00
óleo de perfume	0,20		0,40	0,35	
água desmineralizada	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende uma emulsão de Pickering, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

Ingredientes (em %)	Exemplo 1	Exemplo 2	Exemplo 3	Exemplo 4	Exemplo 5
óleo mineral			16,00	16,00	
octil-dodecanol	9,00	9,00	5,00		
triglicerídeo caprílico/cáprico	9,00	9,00	6,00		
benzoato de C12-15 alquila				5,00	8,00
dicaprato/dicaprilato de butileno-glicol					8,00
dicaprilil-éter	9,00			4,00	
carbonato de dicaprilila		9,00			
hidróxi-estearato de hidróxi-octacosanila	2,00	2,00	2,20	2,50	1,50
diestardimônio hectorita	1,00	0,75		0,50	0,25
cera microcristalina + parafina líquida		0,35			5,00
hidróxi-propil-metil-celulose			0,10		0,05
dimeticona					3,00
ingrediente ativo	1,0	0,5	0,1	3,0	5,0
dióxido de titânio + alumina + dimeticona + água		3,00			
dióxido de titânio + trimetóxi-caprilil-silano		2,00	4,00	2,00	4,00
sílica-dimetil-sililato	2,50			6,00	2,50
nitreto de boro			1,00		
amido/polímero de metafosfato sódico	2,00				
tapioca amido		0,50			
cloreto de sódio	5,00	7,00	8,50	3,00	4,50
glicerol				1,00	
acetato de vitamina E	5,00	10,00	3,00	6,00	10,00
palmitato de ascorbila	1,00	1,00		1,00	
metil-parabeno		0,60			0,20
propil-parabeno					0,20
fenóxi-etanol			0,20		
diisetonato de hexamidina			0,40	0,50	0,40

diazolinil-uréia					0,08
etanol			0,23	0,20	
óleo de perfume	5,00		3,00	4,00	
água desmineralizada	0,20		0,30	0,10	

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um bastão, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>	<b>Exemplo 4</b>
triglicerídeo caprílico/cáprico	12,00	10,00	6,00	
octil-dodecanol	7,00	14,00	8,00	3,00
dicaprato/dicaprilato de butileno-glicol				12,00
tetraisoestearato de pentaeritritila	10,00	6,00	8,00	7,00
poligliceril-3 diisoestearato	2,50			
bis-digliceril poliaciladipato-2-2	9,00	8,00	10,00	8,00
cetearil-álcool	8,00	11,00	9,00	7,00
miristato de miristila	3,50	3,00	4,00	3,00
cera de abelha	5,00	5,00	6,00	6,00
cera de Copernicia cerifera (carnaúba)	1,50	2,00	2,00	1,50
cera alba	0,50	0,50	0,50	0,40
estearato de C16-40 alquila		1,50	1,50	1,50
ingrediente ativo	10,0	1,0	3,0	0,1
Uvinul® A Plus™	2,00	1,50	0,75	9,00
dióxido de titânio - microfino	1,00		3,00	
óxido de zinco - microfino		1,00		0,25
acetato de vitamina E	0,50	1,00		
palmitato de ascorbila	0,05		0,05	
óleo de Buxux chinensis (jojoba)	2,00	1,00		1,00
óleo de perfume, BHT	0,10	0,25		0,35
óleo de Ricinus communis (ricino)	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

5

Em uma outra modalidade preferida, uma composição cosmética compreende um gel oleoso, que pode conter, por exemplo, os seguintes ingredientes em % de acordo com a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, INCI:

<b>Ingredientes (em %)</b>	<b>Exemplo 1</b>	<b>Exemplo 2</b>	<b>Exemplo 3</b>	<b>Exemplo 4</b>
triglicerídeo caprílico/cáprico	12,00	10,00	6,00	
octil-dodecanol	7,00	14,00	8,00	3,00
dicaprato/dicaprilato de butileno-glicol				12,00
tetraisoestearato de pentaeritritila	10,00	6,00	8,00	7,00
poligliceril-3 diisoestearato	2,50			
bis-digliceril poliaciladipato-2-2	9,00	8,00	10,00	8,00
miristato de miristila	3,50	3,00	4,00	3,00
quatérnio-18 bentonita	5,00	5,00	6,00	6,00
carbonato de propileno	15,00	20,00	18,00	19,50
ingrediente ativo	1,0	0,5	3,0	5,0

acetato de vitamina E	0,50	1,00		
palmitato de ascorbila	0,05		0,05	
óleo de Buxus chinensis (jojoba)	2,00	1,00		1,00
óleo de perfume, BHT	0,10	0,25		0,35
óleo de Ricinus communis (rícino)	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Em ainda um outro aspecto, a presente invenção proporciona um método para a produção de uma composição ou um kit para proteger a pele contra microorganismos patogênicos compreendendo as etapas de formular um microorganismo de acordo com o aspecto (i) da invenção, i.e. um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente a invenção ou um mutante, derivado ou uma forma inativa deste microorganismo como descrito acima e um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da invenção, i.e. um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado ou uma forma inativa deste microorganismo como descrito acima com um excipiente ou veículo cosmética e/ou farmacêuticamente aceitável.

Em adição, a presente invenção refere-se ao uso dos microorganismos descritos acima de aspecto (i) e (ii) ou de derivado ou mutante ou formas inativas dos mesmos como descrito acima para a preparação de uma combinação, e.g. composição ou kit, compreendendo um microorganismo de aspecto (i) e um microorganismo de aspecto (ii). Preferivelmente, uma tal composição é uma composição cosmética ou farmacêutica.

A presente invenção também refere-se ao uso de uma combinação de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o

5 crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele para a preparação de uma composição cosmética ou farmacêutica para proteger a pele contra bactérias patogênicas.

Ademais, a presente invenção também refere-se ao uso de uma combinação de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele para a preparação de uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar dermatite, preferivelmente dermatite atópica, psoríase, dermatite de sumagre venenoso, eczema herpético, kerion ou escabiose.

A presente invenção também refere-se ao uso de uma combinação de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de uma razão patogênica desfavorável de microorganismos da pele. O termo “razão patogênica desfavorável de microorganismos da pele” significa uma razão entre microorganismos da microflora patogênica transiente e microorganismos da flora residente normal saudável da pele de pelo menos 51 a até 49,

preferivelmente de pelo menos 60 a até 40, pelo menos 70 a até 30, pelo menos 75 a até 25, pelo menos 80 a até 20, pelo menos 85 a até 15, pelo menos 90 a até 10, pelo menos 95 a até 5, mais precisamente pelo menos 98 a até 2 e ainda mais precisamente pelo menos 99 a até 1, pelo menos 99,9 a até 0,1, pelo menos 99,99 a até 0,01 e muito mais preferivelmente pelo menos 99,999 a até 0,001. Em uma modalidade preferida, o microorganismo da microflora patogênica transiente é *Staphylococcus aureus*; em uma outra modalidade preferida, o microorganismo da flora residente normal saudável da pele é *Staphylococcus epidermidis*. Mais precisamente, a razão entre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* é uma razão de pelo menos 99 a até 1. Em uma modalidade preferida a “razão patogênica desfavorável de microorganismos da pele” é uma razão de microorganismos da pele como encontrados em doenças de pele, preferivelmente em todas as formas de dermatite bacteriana, mais precisamente em dermatite atópica, impetigo, foliculite, ou furunculose.

O tratamento de uma razão patogênica desfavorável de microorganismos da pele compreende um reequilíbrio da microflora da pele. O termo “reequilíbrio da microflora da pele” significa um retorno da de uma razão patogênica desfavorável de microorganismos da pele como definida aqui acima para uma razão saudável de microorganismos da pele. O termo “razão saudável de microorganismos da pele” significa uma razão entre microorganismos da flora residente normal saudável da pele e microorganismos da microflora patogênica transiente de pelo menos 51 a até 49, preferivelmente de pelo menos 60 a até 40, pelo menos 70 a até 30, pelo menos 75 a até 25, pelo menos 80 a até 20, pelo menos 85 a até 15, pelo menos 90 a até 10, pelo menos 95 a até 5, mais precisamente pelo menos 98 a até 2 e muito mais preferivelmente pelo menos 99 a até 1. Em uma modalidade preferida, o microorganismo da microflora patogênica transiente é *Staphylococcus aureus*; em uma outra modalidade preferida, o

microorganismo da flora residente normal saudável da pele é *Staphylococcus epidermidis*. Mais precisamente, o reequilíbrio da microflora da pele leva a uma razão entre *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus* de pelo menos 99 a até 1.

5 O termo “razão” como usado no contexto do tratamento pode ser uma razão patogênica desfavorável e o correspondente reequilíbrio da microflora da pele refere-se à proporção de microorganismos sobre a mesma área de pele em termos de números de células. Preferivelmente, o termo refere-se à proporção de microorganismos sobre a mesma área de pele  
10 humana. Meios e métodos para isolar microorganismos da pele e para determinar seu número em uma área específica são descritos aqui acima e são conhecidos pela pessoa experiente na técnica.

Em uma modalidade preferida o reequilíbrio da flora microbiana da pele ocorre em uma escala de tempo curta. O termo "escala de  
15 tempo curta" significa um período de tempo após a aplicação ou administração da composição farmacêutica de acordo com a invenção de até 4 dias, preferivelmente de até 3 dias, até 48 h, até 36 h, até 24 h, mais precisamente até 12 h, ainda mais precisamente até 8 h e muito mais preferivelmente até 6 h.

20 Em uma outra modalidade preferida a proteção da pele contra bactérias patogênicas ou a profilaxia ou o tratamento de dermatite, e.g. dermatite atópica, psoríase, dermatite de sumagre venenoso, eczema herpético, quérion ou escabiose, compreende um reequilíbrio da microflora da pele.

25 O termo “combinação” como usado no contexto do uso para a preparação de uma composição farmacêutica ou cosmética significa qualquer proporção de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um

mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de

5 microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima entre até 0,001% de (i) e pelo menos 99,999% de (ii), e pelo menos 99,999% de (i) e até 0,001% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma

10 concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii), até 0,1% de (i) e pelo menos 99,9% de (ii), pelo menos 99% de (i) e até 1% de (ii), pelo menos 98% de (i) e até 2% de (ii), pelo menos 95% de (i) e até 5% de (ii), pelo menos 90% de (i) e até 10% de (ii), pelo menos 80% de (i) e até 20% de

15 (ii), pelo menos 75% de (i) e até 25% de (ii), pelo menos 70% de (i) e até 30% de (ii), até 30% de (i) e pelo menos 70% de (ii), até 25% de (i) e pelo menos 75% de (ii), até 20% de (i) e pelo menos 80% de (ii), até 10% de (i) e pelo menos 90% de (ii), até 5% de (i) e pelo menos 95% de (ii), até 2% de (i) e pelo menos 98% de (ii), pelo menos 99% de (i) e até 1% de (ii), até 0,1% de

20 (i) e pelo menos 99,9% de (ii), até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Mais precisamente, o termo refere-se a uma proporção de pelo menos 65% de (i) e até 35% de (ii), pelo menos 60% de (i) e até 40% de (ii), pelo menos 59% de (i) e até 41% de (ii), pelo menos 58% de (i) e até 42% de (ii), pelo menos 57% de (i) e até 43% de

25 (ii), pelo menos 56% de (i) e até 44% de (ii), pelo menos 55% de (i) e até 45% de (ii), pelo menos 54% de (i) e até 46% de (ii), pelo menos 53% de (i) e até 47% de (ii), pelo menos 52% de (i) e até 48% de (ii), pelo menos 51% de (i) e até 49% de (ii), até 49% de (i) e pelo menos 51% de (ii), até 48% de (i) e pelo

menos 52% de (ii), até 47% de (i) e pelo menos 53% de (ii), até 46% de (i) e pelo menos 54% de (ii), até 45% de (i) e pelo menos 55% de (ii), até 44% de (i) e pelo menos 56% de (ii), até 43% de (i) e pelo menos 57% de (ii), até 42% de (i) e pelo menos 58% de (ii), até 41% de (i) e pelo menos 59% de (ii), até 40% de (i) e pelo menos 60% de (ii), até 35% de (i) e pelo menos 65% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Muito mais preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de pelo menos 50% de (i) e até 50% de (ii) ou de até 50% de (i) e pelo menos 50% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Preferivelmente, o termo “proporção” exclusivamente refere-se à razão entre (i) e (ii) na composição, o termo “proporção”, portanto, não exclui a presença de outros componentes na composição em qualquer quantidade ou concentração adequada, como conhecido pela pessoa experiente na técnica. Os termos “composição cosmética” e “composição farmacêutica” significam qualquer composição cosmética ou farmacêutica como descrito aqui acima.

Em uma outra modalidade preferida, uma "combinação" de microorganismos de acordo com o aspecto (i) e (ii) da presente invenção significa uma combinação de microorganismos, sendo que o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção. O termo “influencia negativamente” significa que não pode ser encontrada inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e que não pode ser encontrada

inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (i).

Em outro aspecto a presente invenção refere-se ao uso de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima ou (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima no contexto de materiais têxteis ou substratos têxteis.

Preferivelmente, a presente invenção refere-se ao uso de uma combinação de (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima no contexto de materiais têxteis ou substratos têxteis.

O termo “combinação” no contexto de materiais têxteis ou substratos têxteis significa qualquer proporção de (i) um microorganismo que

é capaz de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima e (ii)

5 um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele ou um mutante, derivado, forma inativa, extrato, fração ou filtrado deste microorganismo como descrito acima entre até 0,001% de (i) e pelo

10 menos 99,999% de (ii), e pelo menos 99,999% de (i) e até 0,001% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii), até 0,1% de (i) e pelo menos 99,9% de (ii), pelo menos 99% de (i) e até 1% de (ii), pelo

15 menos 98% de (i) e até 2% de (ii), pelo menos 95% de (i) e até 5% de (ii), pelo menos 90% de (i) e até 10% de (ii), pelo menos 80% de (i) e até 20% de (ii), pelo menos 75% de (i) e até 25% de (ii), pelo menos 70% de (i) e até 30% de (ii), até 30% de (i) e pelo menos 70% de (ii), até 25% de (i) e pelo menos 75% de (ii), até 20% de (i) e pelo menos 80% de (ii), até 10% de (i) e pelo

20 menos 90% de (ii), até 5% de (i) e pelo menos 95% de (ii), até 2% de (i) e pelo menos 98% de (ii), pelo menos 99% de (i) e até 1% de (ii), até 0,1% de (i) e pelo menos 99,9% de (ii), até 0,01% de (i) e pelo menos 99,99% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Mais precisamente, o termo

25 refere-se a uma proporção de pelo menos 65% de (i) e até 35% de (ii), pelo menos 60% de (i) e até 40% de (ii), pelo menos 59% de (i) e até 41% de (ii), pelo menos 58% de (i) e até 42% de (ii), pelo menos 57% de (i) e até 43% de (ii), pelo menos 56% de (i) e até 44% de (ii), pelo menos 55% de (i) e até 45% de (ii), pelo menos 54% de (i) e até 46% de (ii), pelo menos 53% de (i) e até

47% de (ii), pelo menos 52% de (i) e até 48% de (ii), pelo menos 51% de (i) e até 49% de (ii), até 49% de (i) e pelo menos 51% de (ii), até 48% de (i) e pelo menos 52% de (ii), até 47% de (i) e pelo menos 53% de (ii), até 46% de (i) e pelo menos 54% de (ii), até 45% de (i) e pelo menos 55% de (ii), até 44% de (i) e pelo menos 56% de (ii), até 43% de (i) e pelo menos 57% de (ii), até 42% de (i) e pelo menos 58% de (ii), até 41% de (i) e pelo menos 59% de (ii), até 40% de (i) e pelo menos 60% de (ii), até 35% de (i) e pelo menos 65% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente, e.g. uma concentração de  $10^2 - 10^{13}$  células por mL. Muito mais preferivelmente, o termo refere-se a uma proporção de pelo menos 50% de (i) e até 50% de (ii) ou de até 50% de (i) e pelo menos 50% de (ii) em qualquer concentração adequada conhecida pela pessoa experiente. Preferivelmente, o termo “proporção” exclusivamente refere-se à razão entre (i) e (ii) em um material têxtil ou substrato têxtil, o termo “proporção”, portanto, não exclui a presença de outros componentes no material têxtil ou substrato têxtil em qualquer quantidade ou concentração adequada, como conhecido pela pessoa experiente na técnica.

Em uma outra modalidade preferida, uma "combinação" de microorganismos de acordo com o aspecto (i) e (ii) da presente invenção significa uma combinação de microorganismos, sendo que o microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e o microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção não influencia negativamente o crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção. O termo “influencia negativamente” significa que não pode ser encontrada inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (i) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção e que não pode ser encontrada

inibição do crescimento do microorganismo de acordo com o aspecto (ii) da presente invenção quando usado em combinação com um microorganismo de acordo com o aspecto (i).

5 Preferivelmente, a presente invenção refere-se ao uso de um microorganismo de acordo com o aspecto (i) ou (ii) ou a combinação de microorganismos de acordo com o aspecto (i) e (ii) como descrito aqui acima ou de um derivado, mutante ou forma inativa dos mesmos como descrito aqui acima para o condicionamento ou a impregnação de materiais têxteis ou substratos têxteis. Mais precisamente, o microorganismo de acordo com a  
10 invenção ou um derivado, mutante ou forma inativa do mesmo ou uma combinação dos microorganismos ou seus derivados, mutantes ou formas inativas, como descrito aqui acima, pode ser aplicado em ou sobre materiais têxteis ou substratos têxteis de acordo com qualquer um dos métodos adequados conhecidos pela pessoa experiente na técnica ou como  
15 exemplificado aqui abaixo. Portanto a presente invenção também se refere a qualquer um dos usos, composições ou métodos como descritos aqui acima no âmbito de materiais têxteis ou substratos têxteis.

Conseqüentemente, a presente invenção refere-se a um método para a produção de materiais têxteis e substratos têxteis para estimular o  
20 crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e deste modo o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente não é estimulado e/ou para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele deste modo o crescimento de microorganismos da microflora residente normal  
25 saudável da pele não é inibido de acordo com a invenção ou um seu mutante, derivado ou uma forma inativa com materiais têxteis e substratos têxteis. Preferivelmente, ditos materiais têxteis e substratos têxteis podem compreender um excipiente ou veículo cosmética ou farmacologicamente aceitável como descrito aqui acima ou compreendem uma ou mais das

composições farmacêuticas ou cosméticas como descritas aqui acima.

O termo “materiais têxteis e substratos têxteis para estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e desde modo o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente não é estimulado e/ou para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele deste modo o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele não é inibido”, como usado de acordo com a presente invenção, refere-se a (a) composição(ões) têxtil(eis) que compreende(m) quer pelo menos um microorganismo de acordo com o aspecto (i) ou (ii) da presente invenção, como descrito aqui acima, quer um seu mutante, derivado ou forma inativa, ou uma combinação de microorganismos de acordo com o aspecto (i) e aspecto (ii) da presente invenção, como descrito aqui acima ou um seu mutante, derivado ou forma inativa. Podem, opcionalmente, compreender pelo menos um outro ingrediente adequado para estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele ou para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele (veja também Ullmann, Vol. A 26 S. 227 ff, 1995, que é aqui incorporado como referência).

De acordo com a presente invenção, materiais têxteis e substratos têxteis são fibras têxteis, materiais têxteis semi-acabados e acabados e produtos acabados produzidos a partir dos mesmos - à parte dos materiais têxteis para a indústria de roupas - por exemplo, tapetes e outros tecidos domésticos e formações têxteis servindo para propósitos técnicos. Esta formações também incluem formações não moldadas tais como flocos, formulações lineares tais como, linhas, fibras, fios, linhos, cordas, cordames, filamentos e formações soldadas tais como, por exemplo, feltros, tecidos tecidos, meias, tecidos tricotados, tecidos de fibras ligadas e chumaço. Os materiais têxteis podem ser feitos, por exemplo, de materiais de origem

natural, e.g., algodão em rama, lã ou linho, ou sintéticos, e.g., poliamida, poliéster, poliéster modificado, tecidos mistos de poliéster, tecidos mistos de poliamida, poliacrilonitrila, triacetato, acetato, policarbonato, polipropileno, poli(cloreto de vinila), microfibras de poliéster ou tecidos de fibra de vidro.

5                   Em uma modalidade da presente invenção, o método para a produção de materiais têxteis e substratos têxteis para estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e deste modo o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente não é estimulado e/ou para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da  
10 microflora patogênica transiente da pele deste modo o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele não é inibido de acordo com a invenção pode ser realizado com uma máquina ou um aparelho para o acabamento de materiais têxteis conhecido pela pessoa experiente, por exemplo máquinas padrão tais como foulards. Preferivelmente  
15 ditos foulards são máquinas foulard com, e.g., entrada de alimentação vertical, que contém, por exemplo, como elementos essenciais dois rolos pressionados juntos através dos quais o material têxtil é guiado. Acima dos rolos, pode ser adicionada uma formulação aquosa que molha o material têxtil. Tipicamente, a pressão puxa o material têxtil e garante uma aplicação  
20 constante. Em outra modalidade preferida, nas máquinas foulard o material têxtil é, por exemplo, guiado primeiro através de um banho de imersão e subseqüentemente para cima através de dois rolos prensados juntos, e.g. em foulards com entrada de alimentação de material têxtil vertical a partir de baixo. Máquinas e aparelhos para o acabamento dos materiais têxteis,  
25 especialmente máquinas foulard, são descritos, por exemplo, em Hans-Karl Rouette, "Handbuch der Textilveredlung", Deutscher Fachverlag 2003, p. 618 a 620 que é aqui incorporado como referência.

Em uma outra modalidade da presente invenção, o método para a produção de materiais têxteis e substratos têxteis para estimular o

crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e deste modo o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente não é estimulado e/ou para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele deste modo o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele não é inibido de acordo com a invenção pode ser realizado de acordo com qualquer método de exaustão adequado conhecido pela pessoa experiente na técnica, tal como, por exemplo, pulverização, *slop padding*, *kiss-roll* ou impressão. Preferivelmente, o método para a produção de materiais têxteis e substratos têxteis para suprimir a liberação de ácido 3-metil-2-hexenóico por bactérias da axila de acordo com a invenção é realizado de acordo com um método de exaustão com uma absorção de licor, por exemplo, dentro da faixa de 1 a 50%, preferivelmente de 20 a 40%.

Em uma outra modalidade da presente invenção, o material têxtil pode ser subsequenteiramente tratado termicamente por qualquer meio adequado conhecido pela pessoa experiente na técnica, por exemplo por secagem em temperaturas dentro da faixa de 30 a 100°C ou por fixação técnica em temperaturas dentro da faixa de pelo menos 100, preferivelmente pelo menos 101°C até 150°C, preferivelmente até 135°C. Em uma modalidade preferida, o tratamento pode ser térmico durante um período de 10 segundos até 30 minutos, preferivelmente 30 segundos até 10 minutos. Em outra modalidade preferida da presente invenção, duas etapas de tratamento térmico são realizadas em temperaturas diferentes, por exemplo, na primeira etapa, secagem ocorre em temperaturas dentro da faixa de, e.g., 30 a 100°C durante um período de, e.g., 10 segundos a 20 minutos, e então fixação ocorre em temperaturas dentro da faixa de, e.g., 101 a 135°C durante um período de, e.g., 30 segundos a 3 minutos.

Em uma modalidade preferida, o outro ingrediente incluído no material têxtil e em substratos têxteis que é adequado para estimular o

crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e deste modo o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente não é estimulado e/ou para inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele deste modo o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele não é inibido de acordo com a presente invenção pode ser uma ciclodextrina como descrito em DE 40 35 378 ou DE 10101294,2, uma substância contendo amilose como descrito em EP-A1-1522626.

Tipicamente, ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos, que são formados pela degradação enzimática de amido. Preferivelmente, as ciclodextrinas para serem usadas como ingredientes nos materiais têxteis ou substratos têxteis de acordo com a invenção são [alfa]-, [beta]- ou [gama]-ciclodextrinas que consistem, por exemplo, de seis, sete ou oito, respectivamente, unidades de glicose [alfa]-1,4-ligadas. Uma propriedade característica das moléculas de ciclodextrina é sua estrutura de anel com dimensões basicamente constantes. Tipicamente, o diâmetro interno dos anéis é cerca de 570 pm para [alfa]-ciclodextrina, cerca de 780 pm para [beta]-ciclodextrina e cerca de 950 pm para [gama]-ciclodextrina. Devido à sua estrutura, as ciclodextrinas estão na posição de serem capazes de incorporarem moléculas hóspedes. Em uma modalidade preferida estas moléculas hóspedes podem compreender fragrâncias voláteis conhecidas pela pessoa experiente na técnica: Preferivelmente, estas fragrâncias incluem as fragrâncias como descritas aqui abaixo.

Em uma outra modalidade preferida a presente invenção proporciona o uso de substâncias contendo amilose para modificar as propriedades de odor de materiais têxteis ou substratos têxteis de acordo com a invenção. Preferivelmente, o teor de amilose é pelo menos 30% em peso, baseado no peso total da substância. A invenção também proporciona um método de modificar as propriedades de odor de materiais têxteis de acordo

com a presente invenção que é caracterizado pelo fato de que o material têxtil é acabado com amilose ou uma substância contendo amilose, preferivelmente com um teor de amilose de pelo menos 30% em peso. O termo “amilose ou substância contendo amilose” significa qualquer um dos amidos contendo amilose, e.g. amidos nativos e derivados de amido, cujo teor de amilose é preferivelmente pelo menos 30% em peso. O amido pode ser nativo, e.g. amido de milho, amido de trigo, amido de batata, amido de sorgo, amido de arroz ou amido de maranta, pode ser obtido por digestão parcial de amido nativo ou ser quimicamente modificado. Também é adequada a amilose pura como tal, e.g. amilose enzimaticamente obtida, e.g. amilose obtida de sacarose. Também são adequadas misturas de amilose e amido, preferivelmente se o teor total de amilose for pelo menos 30% em peso, baseado no peso total a mistura. Todos os dados em % em peso que se referem à amilose ou substâncias contendo amilose, para misturas de amilose e amido são sempre baseados no peso total de amilose+amido, a não ser que seja expressamente dito de outra maneira.

De adequabilidade particular de acordo com a invenção são as substâncias contendo amilose, em particular amilose e amidos contendo amilose, e misturas de amilose/amido, em particular amilose e amidos contendo amilose, e misturas de amilose/amido cujo teor de amilose é pelo menos 40% em peso e em particular pelo menos 45% em peso, baseado no peso total da substância. Preferivelmente, o teor de amilose não ultrapassará 90% em peso e em particular 80% em peso. Tais substâncias são conhecidas pela pessoa experiente na técnica e estão comercialmente disponíveis.

Para realizar o efeito de modificação de odor, o material têxtil de acordo com a invenção pode ser acabado com a substância contendo amilose geralmente em um a quantidade adequada, conhecida pela pessoa experiente na técnica, preferivelmente de pelo menos 0,5% em peso, mais precisamente pelo menos 1% em peso e em particular pelo menos 2% em

peso, em cada caso baseado no peso de material têxtil. Preferivelmente, a substância contendo amilose pode ser usada em uma quantidade de não maior do que 25% em peso, muitas vezes não maior do que 20% em peso e em particular não maior do que 15% em peso, baseado no peso do material têxtil de modo a não afetar adversamente as propriedades táteis do material têxtil.

Em uma outra modalidade preferida da invenção, para melhorar as propriedades de odor, o material têxtil de acordo com a invenção pode ser acabado com uma substância contendo amilose como tal. Contudo, também é possível usar uma substância contendo amilose junta com uma fragrância com o propósito de alcançar um odor agradável de longa duração, ou aroma do material têxtil. Preferivelmente, o procedimento envolve tratar ao mesmo tempo o material têxtil com o microorganismo de acordo com a presente invenção e a substância contendo amilose. O material têxtil acabado nesta maneira pode ser então tratado com uma fragrância. Como um resultado, a substância contendo amilose é carregada com a fragrância.

Em uma outra modalidade preferida o material têxtil ou substrato têxtil de acordo com a invenção, que é formulado com um microorganismo de acordo com a invenção ou um mutante, derivado ou uma forma inativa deste microorganismo como descrito acima pode ser acabado com uma fragrância.

Preferivelmente, a fragrância como usada de acordo com qualquer uma das modalidades acima pode ser utilizada em uma quantidade, que é suficiente para o efeito de aroma desejado, como conhecido pela pessoa experiente na técnica. O limite superior é determinado pela capacidade de absorção máxima das unidades de amilose da substância contendo amilose usada e geralmente não ultrapassará e 20% em peso e muitas vezes 10% em peso, baseado no teor de amilose da substância. Se desejado, a fragrância é geralmente utilizada em uma quantidade de 0,1 a 10% em peso e em particular 0,5 a 5% em peso.

Fragrâncias adequadas são em princípio todos os compostos orgânicos voláteis e misturas de compostos orgânicos que são conhecidos como fragrâncias. Uma revisão de fragrâncias é dada em de Ullmann's Encyclopedia de Industrial Chemistry, 5<sup>th</sup> ed. on CD Rom, Flavours and

5  
Fragrâncias, chapter 2, em particular chapters 2.1 a 2.4. De adequabilidade particular de acordo com a invenção são as fragrâncias de natureza alifática e cicloalifática. Estas incluem: C4-C12-álcoois alifáticos, e.g. 3-octanol, cis-3-hexen-1-ol, trans-3-hexen-1-ol, 1-octen-3-ol, 2,6-dimetil-heptan-2-ol, 1-octen-3-ol, 9-decen-1-ol, 10-undecen-1-ol, 2-trans-6-cis-nonadien-1-ol, C6-

10  
C13-aldeídos alifáticos, e.g. hexanal, octanal, nonanal, decanal, undecanal, 2-metil-decanal, 2-metil-undecanal, dodecanal e tridecanal, cis-4-heptenal e 10-undecenal, ésteres de ácidos C1-C6-carboxílicos alifáticos com C1-C8-álcoois alifáticos, opcionalmente monoinsaturados tais como formiato de etila, formiato cis-3-hexenila, acetato de etila, acetato de butila, acetato de isoamila, acetatos de hexila, acetato de 3,5,5-trimetil-hexila, acetato de trans-2-hexenila, cis-3-acetato de hexenila, propionato de etila, butiratos de etila, butirato de butila, butirato de isoamila, butirato de hexila, isobutirato de cis-3-hexenila, isovalerato de etila, 2-metil-butirato de etila, hexanoato de etila, hexanoato de 2-propenila, heptanoato de etila, heptanoato de 2-propenila e

15  
20  
25  
octanoato de etila, hidrocarbonetos terpênicos acíclicos e hidrocarboneto-álcoois, tais como nerol, geraniol, tetraidrogeraniol, linalool, tetraidrolinalool, citronelol, lavandulol, mircenol, farnesol, nerolidol, os formiatos, acetatos, propionatos, butiratos, valeratos e isobutiratos destes álcoois, os aldeídos correspondendo aos álcoois acima mencionados, tais como citral, citronelal, hidróxi-di-hidro-citronelal, metóxi-di-hidro-citronelal e os dimetil- e dietil-acetais de destes aldeídos, tais como dietil-citral, metóxi-di-hidro-citronelal-dimetil-acetal, também hidrocarbonetos terpênicos cíclicos, hidrocarboneto álcoois e aldeídos. Estes também podem incluir aromas de proveniência natural, tais como óleo de rosa, óleo de limão, óleo de lavanda e óleo de

aroma de cravo-da-índia.

Assim, a presente invenção também se refere a materiais têxteis ou substratos têxteis compreendendo um microorganismo de acordo com o aspecto (i) ou (ii) da invenção como descrito aqui acima ou um derivado, mutante ou forma inativa do mesmo como descrito aqui acima, ou uma combinação de um microorganismo de acordo com o aspecto (i) e aspecto (ii) da invenção como descrito aqui acima. “Compreendendo” pode, e.g., significar associado com ou incorporando o microorganismo de acordo com a invenção ou de um derivado, mutante ou forma inativa do mesmo como descrito aqui acima, em particular, em uma forma como resulta de um dos métodos descritos acima.

É para ser entendido que esta invenção não é limitada a metodologia, protocolos, bactérias, vetores, e reagentes particulares etc. aqui descritos porque estes podem variar. Também é para ser entendido que a terminologia aqui usada é para o propósito de apenas descrever modalidades particulares, e não é intencionada para limitar o escopo da presente invenção, que será limitado apenas pelas reivindicações anexadas. A não ser que sejam definidos de outro modo, todos os termos técnicos e científicos aqui usados têm os mesmos significados como comumente entendidos pela pessoa ordinariamente experiente na técnica.

Preferivelmente, os termos aqui usados são definidos como descritos em “A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)”, Leuenberger, H.G.W, Nagel, B. e Kölbl, H. eds. (1995), Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basel, Suíça).

Em todo este relatório descritivo e nas reivindicações que seguem, a não ser que o contexto exija de outro modo, a palavra "compreender", e suas variações "compreende", "compreendem", "compreendendo", serão entendidas como implicando a inclusão de um número inteiro ou etapa ou grupo de números inteiros ou etapas ditos mas não

a exclusão de qualquer outro número inteiro ou etapa ou grupo de números inteiros ou etapas.

Vários documentos são citados em todo o texto deste relatório descritivo. Cada um destes documentos aqui citados (incluindo todas as patentes, pedidos de patente, publicações científicas, especificações de fabricante, instruções, etc.), quer supra quer infra, são aqui inteiramente incorporados como referências. Nada aqui é para ser entendido como uma admissão de que a invenção não está autorizada para antecipar tal descoberta em virtude da técnica anterior.

É preciso ser notado que como aqui usado e nas reivindicações anexadas, as formas singulares "um", "uma", "o" e "a", incluem as referências plurais a não ser que o contexto indique claramente de outra maneira. Assim, por exemplo, referência a "um reagente" inclui um ou mais de tais reagentes diferentes, e referência "ao método" inclui referência às etapas e aos métodos equivalentes conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica que poderiam ser modificadas(os) ou substituir os métodos aqui descritos.

A invenção é ilustrada pelas Figuras 1 a 12 como descritas a seguir:

**Figura 1** mostra a estimulação de crescimento de *Staphylococcus epidermidis* em uma placa de ensaio de orifício/cavidade *in-vitro* (Exemplo 1). A formação de um anel preto ao redor da cavidade indica estimulação de crescimento da cepa indicadora *Staphylococcus epidermidis*. Microscopicamente um número aumentado de colônias pode ser observado.

**Figura 2** mostra estimulação de *Staphylococcus epidermidis* sobre a pele por lactobacilos. São mostradas placas de ágar com a cepa indicadora *Staphylococcus epidermidis* e uma cepa de lactobacilo que têm sido ambas aplicadas na pele. A camada de pele superior tem sido transferida para uma placa de ágar usando uma fita adesiva. Por esta tem sido transferida para a placa de ágar a cepa indicadora. A placa de controle não contém a cepa

de *Lactobacillus*.

**Figura 3** mostra a falta de estimulação de *Staphylococcus aureus* sobre a pele por lactobacilos. São mostradas placas com a cepa indicadora *Staphylococcus aureus* e uma cepa de lactobacilo que têm sido  
5 ambas aplicadas na pele. A camada de pele superior tem sido transferida para uma placa de ágar usando uma fita adesiva. Por esta tem sido transferida para a placa de ágar a cepa indicadora. A placa de controle não contém a cepa de *Lactobacillus*.

**Figura 4** mostra a falta de estimulação de *Staphylococcus aureus* em uma placa de ensaio de orifício/cavidade in-vitro (Exemplo 4).  
10 Não pode ser observada formação de um anel preto com densidade de células aumentada ao redor da cavidade. Isto indica que a cepa indicadora não é estimulada pelo lactobacilo.

**Figura 5** mostra o a inibição de crescimento de  
15 *Staphylococcus aureus* em uma placa de ensaio de orifício/cavidade in-vitro (Exemplo 5). A formação de um anel claro ao redor da cavidade indica inibição de crescimento da cepa indicadora *Staphylococcus aureus*.

**Figura 6** mostra inibição de crescimento de *Staphylococcus aureus* em um ensaio líquido in vitro (Exemplo 6). É mostrado o grau de  
20 inibição que foi quantificado pela contagem das unidades de formação de colônia da cepa indicadora *Staphylococcus aureus* em comparação com um controle sem bactérias do ácido láctico.

**Figura 7** mostra a falta de inibição de crescimento de  
25 *Staphylococcus epidermidis* em um ensaio líquido in vitro (Exemplo 7). É mostrado o grau de inibição, que foi quantificado por contagem das unidades de formação de colônia da cepa indicadora *Staphylococcus epidermidis* em comparação com um controle sem bactérias do ácido láctico.

**Figura 8** mostra a falta de inibição de crescimento de  
*Micrococcus luteus* em um ensaio líquido in vitro (Exemplo 10). É mostrado

o grau de inibição, que foi quantificado por contagem das unidades de formação de colônia da cepa indicadora *Micrococcus luteus* em comparação com um controle sem bactérias do ácido lático.

5 **Figura 9** mostra a falta de inibição de crescimento de *Escherichia coli* em um ensaio líquido in vitro (Exemplo 11). É mostrado o grau de inibição, que foi quantificado por contagem das unidades de formação de colônia da cepa indicadora *Escherichia coli* em comparação com um controle sem bactérias do ácido lático.

10 **Figura 10** mostra o grau de inibição de crescimento de *Staphylococcus aureus* em um ensaio em placa de orifício in vitro em comparação com bacitracina e eritromicina (Exemplo 12). Orifícios pré-cortados têm sido cheios com bacitracina e eritromicina em concentrações diferentes e o crescimento de *Staphylococcus aureus* tem sido observado. As curvas de calibração correspondentes são mostradas em Figura 10A. A inibição de crescimento de *S. aureus* por um número definido de células de *Lactobacillus* (DSM 18006) pré-cultivadas é mostrada em Figura 10B

15 **Figura 11** mostra a estabilidade à protease de substâncias inibitórias de *Lactobacillus* (Exemplo 13). Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus* DSM 18006 tem sido caracterizada em relação à digestibilidade por proteinase K, quimiotripsina, tripsina e protease de *Streptomyces griseus*.

20 **Figura 12** mostra um ensaio de inibição em líquido com *S. aureus*, *S. epidermidis*, OB-LB-Sa3 e OB-LB-H4 (Exemplo 14). *S. aureus* e *S. epidermidis* têm sido inoculados em uma concentração de 1 CFU/mL (*S. epidermidis*) e 100 CFU/mL (*S. aureus*). Co-incubação tem sido feita na presença de OB-LB-Sa3 e OB-LB-H4. A seta indica o ponto de paridade entre a concentração de *S. epidermidis* e *S. aureus*.

A invenção é ilustrada por meio dos seguintes Exemplos 1 a 14:

### **Exemplo 1**

### **Estimulação de crescimento de *S. epidermidis* em uma placa de orifício in vitro**

Têm sido identificadas bactérias do ácido lático que são capazes de estimular o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* sobre placas de ágar em um ensaio de placa de orifício in vitro. Estas bactérias do ácido lático são aqui descritas. Para testar este efeito, orifícios pré-cortados têm sido cheios com bactérias do ácido lático pré-cultivadas e a estimulação de crescimento da cepa indicadora *S. epidermidis* tem sido observada. Para aumentar o efeito visual de estimulação de crescimento Telurita tem sido usada. Telurita especificamente colore estafilococos. Estimulação foi definida como a formação de um anel preto ao redor do orifício onde a bactéria de ácido lático foi pipetada e um aumento da contagem de colônias. Dados são mostrados em Figura 1.

#### Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático foram cultivadas de uma cultura congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Os tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ . 10  $\mu\text{L}$  desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por dois dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (1 mL cada). As células foram suspensas em 200  $\mu\text{L}$  de tampão K/Na.

#### Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus epidermidis* (DSM20044). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Uma alíquota foi diluída para uma densidade óptica  $\text{OD}_{595\text{nm}}$  de 0,025 – 0,05 em caldo BHI e 800  $\mu\text{L}$  foram espalhados sobre placas indicadoras (BHI/Telurita). O ágar foi perfurado usando um

furador de rolha. Os orifícios foram cheios com as bactérias do ácido láctico pré-cultivadas.

Meios e Tampão:

	BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
5	Meio-BHI	Difco
	BHI/Telurita-Ágar	como BHI-Ágar, após esfriamento para 50°C 1 mL de uma solução estéril filtrada de potássio-Telurita 1% é transferido para 100 mL de Meio-BHI; 20 mL por placa
10	Caldo-MRS	Difco, 150 µL/cavidade
	Tampão K/Na	Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave
	- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O 0,066 M	61,2 mL
	- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,066 M	38,8 mL

## 15 Exemplo 2

### **Estimulação de crescimento de *Staphylococcus epidermidis* em um ensaio de pele in-situ**

20 Têm sido identificadas bactérias do ácido láctico probióticas que são capazes de estimular o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* diretamente sobre a pele.

25 Uma cultura de *Staphylococcus epidermidis* foi diluída e diretamente aplicada na pele e seca com ar. Depois uma alíquota da bactéria do ácido láctico foi pontualmente aplicada sobre esta área de pele. A cepa indicadora *Staphylococcus epidermidis* pode ser estimulada diretamente sobre a pele pela bactéria do ácido láctico. Após incubação os estafilococos foram transferidos da pele para uma placa de ágar usando uma fita adesiva. A placa de ágar foi incubada a 37°C. Uma contagem de colônia aumentada indica uma estimulação de crescimento da cepa indicadora sobre a pele (Figura 2). As cepas de lactobacilos da presente invenção, em particular aquelas depositadas

na DSMZ exibiram estimulação de crescimento da cepa indicadora como aqui descrito.

Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático foram cultivadas de uma cultura congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Os tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ . 10  $\mu\text{L}$  desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por dois dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (1 mL cada). As células foram suspensas em 200  $\mu\text{L}$  de tampão K/Na.

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus epidermidis* (DSM20044). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Uma alíquota foi diluída para uma densidade óptica  $\text{OD}_{595\text{nm}}$  de 0,025 – 0,05 em caldo BHI. Esta solução foi diluída de novo (1:100).

Meios e Tampão:

20	BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
	Meio-BHI	Difco
	Caldo-MRS	Difco, 150 $\mu\text{L}$ /cavidade
	Tampão K/Na	Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave
25	- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 0,066 M	61,2 mL
	- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,066 M	38,8 mL

Aplicação de *S. epidermidis* sobre o antebraço:

400  $\mu\text{L}$  de uma diluição 1:100 da cepa indicadora pré-tratada *Staphylococcus epidermidis* foram espalhados uniformemente sobre uma área

de pele definida (10 cm x 3 cm) e secos com ar.

Aplicação de lactobacilos sobre a área de pele inoculada com *S. epidermidis*:

10 10 µL de lactobacilos preparados foram pontualmente aplicados na área de pele pré-inoculada com *S. epidermidis*. O braço foi incubado por duas horas em um ambiente normal.

Reisolamento de microorganismos da pele:

10 Após 2 h as quatro camadas de pele superiores foram transferidas para uma placa de BHI-ágar usando tiras de fita adesiva. Por meio disto as bactérias de pele isoladas foram transferidas para a placa de ágar. As placas de ágar foram incubadas por 24 h a 37°C.

**Exemplo 3**

**Nenhuma estimulação de crescimento de *Staphylococcus aureus* em um ensaio de pele in-situ**

15 Usando este ensaio é possível checar se bactérias indesejadas da flora microbiana patogênica, transiente não são estimuladas pelas bactérias do ácido lático que são capazes de estimular bactérias da microflora residente protetora da pele.

20 Para este propósito cepa indicadora *Staphylococcus aureus* foi elevadamente diluída e aplicada na pele na mesma maneira que como *Staphylococcus epidermidis* (veja Exemplo 2). De novo a atividade de estimulação das bactérias do ácido lático foi testada. A estimulação de *Staphylococcus aureus* pelas bactérias do ácido lático descritas não pôde ser observada. As cepas de lactobacilos da presente invenção, em particular aquelas depositadas na DSMZ, não mostraram estimulação de *Staphylococcus*  
25 *aureus*. Dados são apresentados em Figura 3.

Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático foram cultivadas de uma cultura congelada a -80°C em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Os tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a 37°C. 10 µL desta pré-cultura foram

transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por dois dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (1 mL cada). As células foram suspensas em 200 µL de tampão K/Na.

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus aureus* (DSM346). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15 µL de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a 37°C.

10 Uma alíquota foi diluída para uma densidade óptica OD<sub>595nm</sub> de 0,025 – 0,05 em caldo BHI. Esta solução foi diluída de novo (1:100).

Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
Meio-BHI	Difco
15 Caldo-MRS	Difco, 150 µL/cavidade
Tampão K/Na	Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave
- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O 0,066 M	61,2 mL
- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,066 M	38,8 mL

20 Aplicação de *Staphylococcus aureus* sobre o antebraço:

400 µL de uma diluição 1:100 da cepa indicadora pré-tratada *Staphylococcus aureus* foram espalhados uniformemente sobre uma área de pele definida (10 cm x 3 cm) e secos com ar.

Aplicação de lactobacilos sobre a área de pele inoculada com *S. aureus*:

25 10 µL de lactobacilos preparados foram pontualmente aplicados na área de pele pré-inoculada com *S. aureus*. O braço foi incubado por duas horas em um ambiente normal.

Reisolamento de microorganismos da pele:

Após 2 h as quatro camadas de pele superiores foram

transferidas para uma placa de BHI-ágar usando tiras de fita adesiva. Por meio disto as bactérias de pele isoladas foram transferidas para a placa de ágar. As placas de ágar foram incubadas por 24 h a 37°C. Os dados são mostrados em Figura 3.

#### 5 **Exemplo 4**

#### **Nenhuma estimulação de crescimento de *S. aureus* em uma placa de orifício in vitro**

Têm sido identificadas bactérias do ácido láctico que são capazes de estimular o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* sobre  
10 placas de ágar em uma placa de orifício in vitro mas não o representante da flora microbiana transiente de pele *Staphylococcus aureus*. Para testar este efeito, orifícios pré-cortados têm sido cheios com bactérias do ácido láctico pré-cultivadas que são capazes de estimular *Staphylococcus epidermidis* e ausência de estimulação de crescimento da cepa indicadora *S. aureus* tem sido  
15 observada. Para aumentar o efeito visual de estimulação de crescimento Telurita tem sido usada. Telurita especificamente cora estafilococos. Estimulação foi definida como a formação de um anel preto ao redor do orifício contendo a bactéria do ácido láctico e um aumento da contagem de colônias. As cepas de lactobacilos da presente invenção, em particular aquelas  
20 depositadas na DSMZ não mostraram estimulação de *Staphylococcus aureus*. Dados são mostrados em Figura 4.

#### Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido láctico foram cultivadas de uma cultura congelada a -80°C em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Os tubos  
25 foram fechados e cultivados por 2 dias a 37°C. 10 µL desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por dois dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (1 mL cada). Células foram suspensas

em 200  $\mu\text{L}$  de tampão K/Na.

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus aureus* (DSM346). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a 37°C. Uma alíquota foi diluída para uma densidade óptica  $\text{OD}_{595\text{nm}}$  de 0,025 – 0,05 em caldo BHI e 800  $\mu\text{L}$  foram espalhados sobre placas indicadoras (BHI/Telurita). O ágar foi perfurado usando um furador de rolha. Os orifícios foram cheios com as bactérias do ácido láctico pré-cultivadas.

10 Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
Meio-BHI	Difco
BHI/Telurita-Ágar	como BHI-Ágar, após esfriamento para 50°C 1 mL de uma solução de potássio-Telurita 1% esterilizada por filtração é transferido para 100 mL de Meio-BHI; 20 mL são distribuídos por placa
Caldo-MRS	Difco, 150 $\mu\text{L}$ /cavidade
Tampão K/Na	Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 0,066 M	61,2 mL
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,066 M	38,8 mL

**Exemplo 5**

**Inibição de crescimento de *S. aureus* em um ensaio em placa de orifício *in vitro***

Têm sido identificadas bactérias do ácido láctico específicas, que são capazes de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* sobre placas de ágar em um ensaio em placa de orifício *in vitro*. Para testar este efeito, orifícios pré-cortados têm sido cheios com bactérias do ácido láctico

pré-cultivadas e a inibição de crescimento da cepa indicadora *S. aureus* tem sido observada. Dados são mostrados em Figura 5.

#### Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido láctico foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006) de uma cultura congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ . 10  $\mu\text{L}$  desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspensas em 200  $\mu\text{L}$  de tampão K/Na.

#### Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus aureus* (DSM346). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Uma alíquota foi diluída para uma densidade óptica  $\text{OD}_{595\text{nm}}$  de 0,025 – 0,05 em caldo BHI e 800  $\mu\text{L}$  foram espalhados sobre placas indicadoras (BHI). O ágar foi perfurado usando um furador de rolha. Os orifícios foram cheios com 5  $\mu\text{L}$  ou 10  $\mu\text{L}$  das bactérias do ácido láctico pré-cultivadas.

#### 20 Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
Meio-BHI	Difco
Caldo-MRS	Difco
Tampão K/Na	de acordo com Küster Thiel, pH 7,0,
25	Esterilizado em autoclave
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 0,066 M	61,2 mL
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,066 M	38,8 mL

#### **Exemplo 6**

#### **Inibição de crescimento de *S. aureus* em um ensaio líquido in vitro**

Têm sido identificadas bactérias do ácido lático, que são capazes de especificamente inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* em um meio líquido em um ensaio em líquido in vitro. Para testar este efeito, as bactérias do ácido lático pré-cultivadas têm sido co-incubadas com a cepa indicadora *S. aureus* em meio de cultivo líquido, otimizado para o crescimento de *Staphylococci*. O grau de inibição foi quantificado pela contagem de unidades de formação de colônia da cepa indicadora em comparação com o controle sem bactérias do ácido lático. Dados são mostrados em Figura 6.

#### 10 Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006) de uma cultura congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ . 10  $\mu\text{L}$  desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min,  $4000 \times g$ ). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspensas em 200  $\mu\text{L}$  de tampão K/Na com glicerol 250 mM e incubadas por 17 h.

#### 20 Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus aureus* (DSM346). 10 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma cultura congelada para uma pré-cultura de 24 h. A cultura foi diluída com caldo BHI fresco para uma concentração de células de  $2,5 \times 10^8$  células/mL.

#### 25 Ensaio de inibição em líquido:

Para o ensaio em líquido 5  $\mu\text{L}$  das bactérias do ácido lático recém-preparadas (de 200  $\mu\text{L}$ ) e 10  $\mu\text{L}$  da cepa indicadora pré-cultivada *S. aureus* foram inoculados para uma co-cultura em 10 mL de caldo BHI. A

cultura foi incubada por 7 h. Mais tarde 100 µL de uma diluição 1:10.000 foram espalhados sobre uma placa de BHI ágar para quantificação das unidades de formação de colônia. A placa foi incubada por 24 h horas e as unidades de formação de colônia foram contadas.

5 Meios e Tampão:

BHI-Ágar           Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa

Meio-BHI           Difco

Caldo-MRS         Difco

Tampão K/Na       de acordo com Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em  
10                   autoclave

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O 0,066 M     61,2 mL

- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,066 M             38,8 mL

**Exemplo 7**

**Nenhuma inibição de crescimento de um ensaio em líquido *in vitro* com**

15 ***Staphylococcus epidermidis***

Usando este ensaio foi possível checar se bactérias do ácido láctico selecionadas que foram capazes de inibir o crescimento do microorganismo patogênico *Staphylococcus aureus* não inibiram o membro maior da microflora comensal da pele, *Staphylococcus epidermidis* em um  
20 ensaio em líquido *in vitro*.

Para testar este efeito, as bactérias do ácido láctico pré-cultivadas têm sido co-incubadas com a cepa indicadora em uma cultura líquida. O grau de inibição foi quantificado pela contagem de unidades de formação de colônia de ambas as cepas indicadoras em comparação com o  
25 controle sem bactérias do ácido láctico. Dados são mostrados em Figura 7.

Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido láctico foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006) de uma cultura congelada a -80°C em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a 37°C. 10 µL desta

pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspendidas em 200 µL de tampão K/Na com glicerol 250 mM e incubadas por 17 h.

#### Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus epidermidis* (DSM20044). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15 µL de uma cultura congelada para uma pré-cultura de 24 h.

#### Ensaio de inibição em líquido

Para o ensaio em líquido 5 µL das bactérias do ácido láctico recém-preparadas (de 200 µL) e 10 µL da cepa indicadora pré-cultivada *S. epidermidis* foram inoculados para uma co-cultura em 10 mL de caldo BHI. A cultura foi incubada por 7 h. Mais tarde 100 µL de uma diluição 1:10.000 foram espalhados sobre uma placa de BHI ágar para quantificação das unidades de formação de colônia. A placa foi incubada por 24 h horas e as unidades de formação de colônia foram contadas.

20 Meios e Tampão:

BHI-Ágar           Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa

Meio-BHI           Difco

Caldo-MRS        Difco

Tampão K/Na      de acordo com Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave

25

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O 0,066 M    61,2 mL

- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,066 M            38,8 mL

#### **Exemplo 8**

**Inibição de crescimento de *Staphylococcus aureus* em um ensaio de pele**

*in situ*

Tem sido identificadas bactérias do ácido lático que são capazes de inibir o crescimento de *S. aureus* diretamente sobre a pele.

Para testar este efeito, uma cultura de *Staphylococcus aureus* foi diluída e diretamente aplicada na pele e seca com ar. Mais tarde uma alíquota da bactéria do ácido lático foi aplicada sobre esta área de pele. Assim a cepa indicadora *Staphylococcus aureus* foi inibida diretamente sobre a pele pela bactéria do ácido lático. Após incubação os estafilococos foram transferidos da pele para uma placa de ágar usando uma fita adesiva. A placa de ágar foi incubada a 37°C. Uma contagem de colônias diminuída em comparação com o controle sem bactérias do ácido lático indica uma inibição de crescimento da cepa indicadora sobre a pele.

Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006) de uma cultura congelada a -80°C em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a 37°C. 10 µL desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células são ressuspensas em 200 µL de tampão K/Na.

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus aureus* (DSM346). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15 µL de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a 37°C.

Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
Meio-BHI	Difco
Caldo-MRS	Difco

Tampão K/Na Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado  
em autoclave

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O 0,066 M 61,2 mL

- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,066 M 38,8 mL

5 Aplicação de *S. aureus* sobre o antebraço:

400 µL de uma diluição 1:100 da cepa indicadora preparada *Staphylococcus aureus* foram espalhados consistentemente sobre uma área de pele definida (10 cm x 3 cm) e secos com ar.

Aplicação de lactobacilos sobre a área de pele inoculada com *S. aureus*:

10 10 µL de lactobacilos preparados foram aplicados na área de pele pré-inoculada com *S. aureus*. O braço foi incubado por seis horas em um ambiente normal.

Reisolamento de microorganismos da pele:

15 Após 6 h as quatro camadas de pele superiores foram transferidas para uma placa de BHI-ágar usando tiras de fita adesiva. Assim as bactérias da pele isoladas foram transferidas para a placa de ágar. Placas de ágar foram incubadas por 24 h a 37°C.

**Exemplo 9**

20 **Nenhuma inibição de crescimento de *Staphylococcus epidermidis* em um ensaio de pele *in situ***

Têm sido identificadas bactérias do ácido láctico que inibem o crescimento de *Staphylococcus aureus*, enquanto que o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* não é afetado diretamente sobre a pele.

25 Usando este ensaio foi possível checar se o microorganismo comensal *Staphylococcus epidermidis* da flora normal saudável da pele não foi inibido pelas bactérias do ácido láctico que são capazes de inibir *Staphylococcus aureus*.

Portanto a cepa indicadora *Staphylococcus epidermidis* foi aplicada elevadamente diluída na pele na mesma maneira que *Staphylococcus*

*aureus*. De novo inibição da atividade de bactérias do ácido láctico foi testada. Uma inibição de *Staphylococcus epidermidis* não tem sido observada com as bactérias do ácido láctico descritas.

Cultivo e preparação de lactobacilos:

5 Bactérias do ácido láctico foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006) de uma cultura congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ . 10  $\mu\text{L}$  desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura 10 as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspensas em 200  $\mu\text{L}$  de tampão K/Na.

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

15 A cepa indicadora foi *Staphylococcus epidermidis* (DSM20044). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ .

Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
20 Meio-BHI	Difco
Caldo-MRS	Difco
Tampão K/Na	Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 0,066 M	61,2 mL
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,066 M	38,8 mL

25 Aplicação de *Staphylococcus epidermidis* sobre o antebraço:

400  $\mu\text{L}$  de uma diluição 1:100 da cepa indicadora pré-tratada *Staphylococcus epidermidis* foram espalhados uniformemente sobre uma área de pele definida (10 cm x 3 cm) e secos com ar.

Aplicação de lactobacilos sobre a área de pele inoculada com *S. epidermidis*:

10 µL de lactobacilos preparados foram aplicados na área de pele pré-inoculada com *S. epidermidis*. O braço foi incubado por seis horas em um ambiente normal.

Reisolamento de microorganismos da pele:

5                   Após 6 h as quatro camadas superiores da pele foram transferidas para uma placa de BHI-ágar usando tiras de fita adesiva. Assim as bactérias isoladas são transferidas para a placa de ágar. Placas de ágar são incubadas por 24 h a 37°C.

**Exemplo 10**

10   **Nenhuma inibição de crescimento de *Micrococcus luteus* no ensaio em líquido *in-vitro***

                  As bactérias do ácido láctico selecionadas que são capazes de inibir o crescimento do microorganismo patogênico *Staphylococcus aureus* não inibem o membro relevante da microflora comensal da pele, *Micrococcus*  
15   *luteus* em um ensaio em líquido in vitro.

                  Para testar este efeito, as bactérias do ácido láctico pré-cultivadas têm sido co-incubadas com a cepa indicadora em uma cultura líquida. O grau de inibição foi quantificado pela contagem de unidades de formação de colônia de ambas as cepas indicadoras em comparação com o  
20   controle sem bactérias do ácido láctico. Dados são mostrados em Figura 8.

Cultivo e preparação de lactobacilos:

                  Bactérias do ácido láctico foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006 e OB-LB-Sa16; DSM 18007) de uma cultura congelada a -80°C em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados  
25   por 2 dias a 37°C. 10 µL desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspensas em 200 µL de

tampão K/Na com glicerol 250 mM e incubadas por 17 h.

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Micrococcus luteus*. 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15 µL de uma cultura congelada para uma pré-cultura de 24 h.

Ensaio de inibição em líquido:

Para o ensaio em líquido 5 µL das bactérias do ácido lático recém-preparadas (de 200 µL) e 10 µL da cepa indicadora pré-cultivada *M. luteus* foram inoculados para uma co-cultura em 10 mL de caldo BHI. A cultura foi incubada por 7 h. Mais tarde 100 µL de uma diluição 1:1.000 foram espalhados sobre uma placa de BHI ágar para quantificação das unidades de formação de colônia. A placa foi incubada por 24 h e as unidades de formação de colônia foram contadas.

Meios e Tampão:

15	BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
	Meio-BHI	Difco
	Caldo-MRS	Difco
	Tampão K/Na	de acordo com Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave
20	- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O 0,066 M	61,2 mL
	- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,066 M	38,8 mL

**Exemplo 11**

**Nenhuma inibição de crescimento de *Escherichia coli* no ensaio em líquido *in-vitro***

As bactérias do ácido lático selecionadas que são capazes de inibir o crescimento do microorganismo patogênico *Staphylococcus aureus* não inibem outros microorganismos relevantes para humano, e.g *Escherichia coli* em um ensaio em líquido *in vitro*.

Para testar este efeito, as bactérias do ácido lático pré-

cultivadas têm sido co-incubadas com a cepa indicadora em cultura líquida. O grau de inibição foi quantificado pela contagem de unidades de formação de colônia de ambas as cepas indicadoras em comparação com o controle sem bactérias do ácido lático. Dados são mostrados em Figura 9.

5 Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006 e OB-LB-Sa16; DSM 18007) de uma cultura congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ . 10  $\mu\text{L}$  desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspensas em 200  $\mu\text{L}$  de tampão K/Na com glicerol 250 mM e incubadas por 17 h.

15 Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Escherichia coli*. 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma cultura congelada para uma pré-cultura de 24 h.

Ensaio de inibição em líquido:

20 Para o ensaio em líquido 5  $\mu\text{L}$  das bactérias do ácido lático recém-preparadas (de 200  $\mu\text{L}$ ) e 10  $\mu\text{L}$  da cepa indicadora pré-cultivada *E. coli* foram inoculados para uma co-cultura em 10 mL de caldo BHI. A cultura foi incubada por 7 h. Mais tarde 100  $\mu\text{L}$  de uma diluição 1:1.000 foram espalhados sobre uma placa de BHI ágar para quantificação das unidades de formação de colônia. A placa foi incubada por 24 h e as unidades de formação de colônia foram contadas.

Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
Meio-BHI	Difco

Caldo-MRS	Difco
Tampão K/Na	de acordo com Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O 0,066 M      61,2 mL

5 - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,066 M                      38,8 mL

### **Exemplo 12**

#### **Grau de inibição de crescimento de *S. aureus* em uma placa de orifício in vitro em comparação com bacitracina e eritromicina**

Têm sido identificadas bactérias do ácido láctico, que são capazes de especificamente inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* sobre placas de ágar em uma placa de orifício in vitro. Este efeito tem sido comparado com preparações cremosas antibióticas comerciais de bacitracina e eritromicina. Para comparar este efeito, orifícios pré-cortados têm sido cheios com ambos os antibióticos em concentrações diferentes e a inibição de crescimento da cepa indicadora *S. aureus* tem sido observada (curvas de calibração em Figura 10A). O diâmetro das zonas de inibição tem sido medido e a área de inibição tem sido calculada do mesmo. Mais tarde esta área tem sido correlacionada com a inibição de crescimento de *S. aureus* pelos números definidos de células de cepa OB-LB-Sa3 (DSM 18006) de *Lactobacillus* pré-cultivadas (veja Figura 10B).

#### Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido láctico foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006) de uma cultura congelada a -80°C em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a 37°C. 10 µL desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspensas em 200 µL de tampão K/Na.

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus aureus* (DSM346). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15 µL de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a 37°C. Uma alíquota foi diluída para uma densidade óptica OD<sub>595nm</sub> de 0,025 – 0,05 em caldo BHI e 800 µL foram espalhados sobre placas indicadoras (BHI). O ágar foi perfurado usando um furador de rolha. Os orifícios foram cheios com 5 µL ou 10 µL das bactérias do ácido láctico pré-cultivadas ou volumes correspondentes de preparações antibióticas comerciais.

## 10 Meios e Tampão:

BHI-Ágar            Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa

Meio-BHI            Difco

Caldo-MRS           Difco

Tampão K/Na        de acordo com Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado

## 15 em autoclave

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O 0,066 M    61,2 mL

- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,066 M                38,8 mL

**Exemplo 13****Estabilidade à protease da substância inibitória de *Lactobacillus***

20                    Têm sido identificadas bactérias do ácido láctico, que são capazes de especificamente inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* sobre placas de ágar em uma placa de orifício in vitro. A atividade antimicrobiana de lactobacilos selecionados tem sido caracterizada a respeito de digestibilidade por proteinase K, próteas de *Streptomyces griseus*, quimiotripsina e tripsina. Preparações livres de células de sobrenadantes de *Lactobacillus* têm sido preparadas e incubadas com proteases diferentes por 1 h a 37°C. Mais tarde estas preparações têm sido testadas para sua capacidade para inibir o crescimento da cepa indicadora *S. aureus*. O diâmetro das zonas de inibição tem sido medido e a área de inibição tem sido calculada do mesmo

25

(veja Figura 11).

Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático foram cultivadas (OB-LB-Sa3; DSM 18006) de uma cultura congelada a  $-80^{\circ}\text{C}$  em 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a  $37^{\circ}\text{C}$ . 7 mL desta pré-cultura foram transferidos para a cultura principal consistindo de 40 mL de caldo MRS em frascos. A cultura foi incubada por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min,  $4000 \times g$ ). A pelota de células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 2 mL). Células foram ressuspensas em 10 mL de meio BHI e incubadas por 6 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Células foram colhidas por centrifugação (15 min,  $4000 \times g$ ) e o sobrenadante foi usado para incubação com protease. Em detalhe, 150  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram incubados com 15  $\mu\text{L}$  de uma solução de protease a 10 mg/mL  $37^{\circ}\text{C}$ .

Cultivo e preparação da cepa indicadora:

A cepa indicadora foi *Staphylococcus aureus* (DSM346). 20 mL de caldo BHI em um frasco de vidro agitado foram inoculados com 15  $\mu\text{L}$  de uma pré-cultura de 24 h. A cepa indicadora foi cultivada por 24 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Uma alíquota foi diluída para uma densidade óptica  $\text{OD}_{595\text{nm}}$  de 0,025 – 0,05 em caldo BHI e 800  $\mu\text{L}$  foram espalhados sobre placas indicadoras (BHI). O ágar foi perfurado usando um furador de rolha. Os orifícios foram cheios com 5  $\mu\text{L}$  ou 10  $\mu\text{L}$  das células cultivadas e foram incubados com 15  $\mu\text{L}$  de uma solução de protease a 10 mg/mL a  $37^{\circ}\text{C}$  por 1 h. Mais tarde 5  $\mu\text{L}$  ou 10  $\mu\text{L}$  do sobrenadante de lactobacilo tratado com protease foram usados para o ensaio de inibição

25 Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
Meio-BHI	Difco
Caldo-MRS	Difco
Tampão K/Na	de acordo com Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em

autoclave

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O 0,066 M 61,2 mL

- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,066 M 38,8 mL

#### Exemplo 14

#### 5 Reequilíbrio microfloral da pele por uma combinação de OB-LB-Sa3 (DSM18006) e OB-LB-H4 (DSM17250) em um ensaio em líquido *in-vitro*

Tem sido verificado, que OB-LB-Sa3 (DSM18006) e OB-LB-H4 (DSM17250) são capazes de especificamente reverter uma razão adversa de *S. aureus* e *S. epidermidis* em um meio líquido em um ensaio em líquido  
 10 *in-vitro*. Para testar este efeito, as bactérias do ácido lático pré-cultivadas têm sido co-incubadas com razões diferentes de cepas indicadoras *S. epidermidis* e *S. aureus* em meio de cultivo líquido, otimizado para o crescimento de *Staphylococci*. A razão de *S. epidermidis* e *S. aureus* foi quantificada por contagem das unidades de formação de colônia das cepas indicadoras em  
 15 comparação com o controle sem bactérias do ácido lático. Dados são mostrados em Figura 12.

#### Cultivo e preparação de lactobacilos:

Bactérias do ácido lático (OB-LB-Sa3 (DSM18006) e OB-LB-H4 (DSM17250)) foram separadamente cultivadas de uma cultura congelada  
 20 a -80°C em 1 mL de caldo MRS em tubo Eppendorf. Tubos foram fechados e cultivados por 2 dias a 37°C. 10 µL de cada pré-cultura foram transferidos para uma cultura principal separada consistindo de 7 mL de caldo MRS em tubos Falcon. As culturas foram incubadas por 2 dias. Após a cultura as células foram colhidas por centrifugação (15 min, 4000 x g). A pelota de  
 25 células foi lavada duas vezes com tampão K/Na (cada 1 mL). Células foram ressuspensas em 200 µL de tampão K/Na.

#### Cultivo e preparação da cepa indicadora:

As cepas indicadoras *Staphylococcus epidermidis* (DSM20044) e *Staphylococcus aureus* (DSM346) foram cultivadas

separadamente. 10 mL de caldo BHI em m frasco de vidro agitado foram cada um inoculados com 15 µL de uma cultura congelada para uma pré-cultura de 24 h. Ambas as culturas foram diluídas com caldo BHI fresco para um número de células de  $1 \times 10^7$  CFU/mL.

5 Ensaio de inibição em líquido:

Para o ensaio em líquido volumes diferentes das bactérias do ácido láctico recém-preparadas (de 200 µL) e volumes e razões diferentes das cepas indicadoras pré-cultivadas *S. epidermidis* e *S. aureus* foram inoculados para uma co-cultura em 10 mL de caldo BHI. OB-LB-Sa3 (DSM18006) e  
 10 OB-LB-H4 (DSM17250) foram usadas em uma razão de 50:50. A cultura foi incubada por 24 h. Em instantes de tempo diferentes 100 µL de uma diluição adequada foram espalhados sobre uma placa de BHI ágar para quantificação das unidades de formação de colônia de ambas as cepas indicadoras. A placa foi incubada por 24 h horas a 37°C e as unidades de formação de colônia de  
 15 ambas as cepas indicadoras foram determinadas.

Meios e Tampão:

BHI-Ágar	Ágar Difco 1,8%; 20 mL por placa
Meio-BHI	Difco
Caldo-MRS	Difco
20 Tampão K/Na	de acordo com Küster Thiel, pH 7,0, esterilizado em autoclave
- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O 0,066 M	61,2 mL
- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,066 M	38,8 mL

Referências citadas

- 25 Aly, R., Maibach, HI., Shinefield, HR., Strauss, WG. (1972): Survival of pathogenic microorganisms on human skin. *J. Invest. Dermatol.* 58(4): 205-210.
- Bisno, AL. (1984): Cutaneous infections: microbiologic and epidemiologic considerations. *Am. J. Med.* 76(5A): 172-179.

- Brook, I. (2000): The effects of amoxicillin therapy on skin flora in infants. *Pediatr. Dermatol.* 17(5): 360-363.
- Elek, SD. (1956): Experimental staphylococcal infections in the skin of man. *Ann. NY Acad. Sci.* 65: 85-90.
- 5 Feingold, DS. (1985): Cutaneous microbial flora. *Cutis.* 36(5A): 1.
- Gfatter, R., Hackl, P., Braun, F. (1997): Effects of soap and detergents on skin surface pH, estrato córneo hydration and fat content in infants. *Dermatology.* 195(3): 258-262.
- Gibbons, RJ., Houte, JV. (1975): Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.* 1975;29: 19-44.
- 10 Hurst, V. (1959): Transmission of hospital staphylococci among newborn infants. *Pediatrics* 25: 204-214.
- Imokawa, G., Akasaki, S., Hattori, M., Yoshizuka, N. (1986): Selective recovery of deranged water-holding properties by estrato córneo lipids. *J. Invest. Dermatol.* 87(6): 758-761.
- 15 Korting, HC. (1992): Einfluß des pH-Wertes auf das Wachstum von *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* und *Propionibacterium acnes* in kontinuierlicher Kultur. *Zbl. Hyg.* 193: 78-90.
- Korting, HC., Hübner, K., Greiner, K., Hamm, G., Braun-Falco, O. (1990):  
 20 Unterschiede des Hautoberflächen-pH-Wertes und der bakteriellen Mikroflora durch Langzeit-Anwendung synthetische Detergenz-Zubereitungen mit pH 5,5 und pH 7,0 em *Acta Derm Venereol.* 70: 429-457.
- Larson, E. (2001): Hygiene of the skin: when is clean too clean? *Emerg. Infect. Dis.* 7(2): 225-230.
- 25 Leyden, JJ., McGinley, KJ., Nordstrom, KM., Webster, GF. (1987): Skin microflora. *J. Invest, Dermatol.* 88(3): 65-72.
- Lukas, A. (1990): Beeinflußbarkeit des Wachstums wichtiger Bakterien der Residentflora in-vitro durch den pH-Wert. Em: O. Braun-Falco, HC. Korting (Hrsg.): Hautreinigung mit Syndets, 104-112.

- Milyani, RM., Selwyn, S. (1978): Quantitative studies on competitive activities of skin bacteria growing on solid media. *J. Med. Microbiol.* 11(4): 379-386.
- Ohnishi, Y., Okino, N., Ito, M., Imayama, S. (1999): Ceramidase activity in  
5 bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 6(1): 101-104.
- Roth, RR., James, WD. (1988): Microbial ecology of the skin. *Annu. Rev. Microbiol.* 42: 441-464.
- Selwyn, S., Ellis, H. (1972): Skin bacteria and skin disinfection reconsidered.  
10 *Br. Med. J.* 1(793): 136-140.
- Sullivan, A., Edlund, C., Nord, CE. (2001): Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human micro flora. *Lancet. Infect. Dis.* 1(2): 101-114.
- Yosipovitch, G., Maibach, HI. (1996): Skin surface pH: A protective acid  
15 mantle em *Cosmetics Toiletries magazine* 111 (12): 101

## REIVINDICAÇÕES

1. Composição, caracterizada pelo fato de compreender (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele.

2. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de ser uma composição cosmética opcionalmente compreendendo um veículo ou excipiente cosmeticamente aceitável.

3. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de ser uma composição farmacêutica opcionalmente compreendendo um excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

4. Kit, caracterizado pelo fato de compreender (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele.

5. Uso de uma combinação de microorganismos, ditos microorganismos sendo (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica

transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição cosmética ou farmacêutica para proteger a pele contra bactérias patogênicas.

5                   6. Uso de uma combinação de microorganismos, ditos microorganismos sendo (i) um microorganismo que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o  
10 crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição farmacêutica para a profilaxia ou o tratamento de dermatite.

15                   7. Uso de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a dermatite é dermatite atópica, psoríase, dermatite de sumagre venenoso, eczema herpético, quérion ou escabiose.

                    8. Uso de uma combinação de microorganismos, ditos microorganismos sendo (i) um microorganismo que é capaz de estimular o  
20 crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) um microorganismo que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da  
25 microflora residente normal saudável da pele, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de uma razão patogênica desfavorável de microorganismos da pele.

                    9. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o tratamento de uma razão patogênica desfavorável de

microorganismos da pele compreende um reequilíbrio da microflora da pele.

5 10. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, o kit de acordo com a reivindicação 4 ou o uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 9, caracterizada(o) pelo fato de que o microorganismo definido em (i), que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente, é capaz de estimular o crescimento de *Staphylococcus epidermidis*.

10 11. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 10, caracterizada(o) pelo fato de que dito microorganismo é capaz de estimular o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* in vitro.

15 12. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 10 ou 11, caracterizada(o) pelo fato de que dito microorganismo é capaz de estimular o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* em um ensaio de pele in situ.

20 13. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 10 a 12, o kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 ou 10 a 12 ou o uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 12, caracterizada(o) pelo fato de que o microorganismo definido em (i), que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente, não estimula o crescimento de *Staphylococcus aureus*.

25 14. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, o kit de acordo com a reivindicação 4 ou o uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 9, caracterizada(o) pelo fato de que o microorganismo definido em (ii), que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal

saudável da pele, é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*

15. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 14, caracterizada(o) pelo fato de que dito microorganismo é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* in vitro.

5 16. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 14 ou 15, caracterizada(o) pelo fato de que dito microorganismo é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* em um ensaio em líquido in vitro.

10 17. Composição, kit ou uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 14 a 16, caracterizada(o) pelo fato de que dito microorganismo é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* em um ensaio de pele in situ.

15 18. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 14 a 17, o kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 ou 14 a 17 ou o uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7 ou 14 a 17, caracterizada(o) pelo fato de que o microorganismo definido em (ii), que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele, não inibe o crescimento de *Staphylococcus epidermidis*.

20 19. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 10 a 13, o kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 ou 10 a 13 ou o uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 13, caracterizada(o) pelo fato de que o microorganismo definido em (i), que é capaz de estimular o crescimento de um ou mais  
25 microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente, é um microorganismo pertencendo ao gênero de *Lactobacillus*.

20. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 19, caracterizada(o) pelo fato de que dito *Lactobacillus* é *Lactobacillus*

*paracasei*, *Lactobacillus brevis* ou *Lactobacillus fermentum*.

21. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 20, caracterizada(o) pelo fato de que dito *Lactobacillus paracasei* é da subespécie *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*.

5 22. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 20 ou 21, caracterizada(o) pelo fato de que dito *Lactobacillus* é selecionado do grupo consistindo de *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis* ou *Lactobacillus fermentum* tendo número de acesso em DSMZ de DSM 17248, número de acesso DSM 17247, número de acesso DSM 17250 e número de  
10 acesso DSM 17249 ou um seu mutante ou derivado, sendo que dito mutante ou derivado retém a capacidade para estimular o crescimento de pelo menos um microorganismo da flora microbiana residente da pele e não estimula o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente.

23. Composição de acordo com qualquer uma das  
15 reivindicações 1 a 3 ou 14 a 22, o kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 ou 14 a 22 ou o uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7 ou 14 a 22, caracterizada(o) pelo fato de que o microorganismo definido em (ii), que é capaz de inibir o crescimento de um ou mais microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que  
20 não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele, pertence ao gênero de *Lactobacillus*.

24. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 23, caracterizada(o) pelo fato de que dito *Lactobacillus* é *Lactobacillus buchneri*, ou *Lactobacillus delbrückii*.

25 25. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 24, caracterizada(o) pelo fato de que dito *Lactobacillus delbrückii* é da subespécie *Lactobacillus delbrückii ssp. delbrückii*.

26. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 24 ou 25, caracterizada(o) pelo fato de que dito *Lactobacillus* é selecionado do

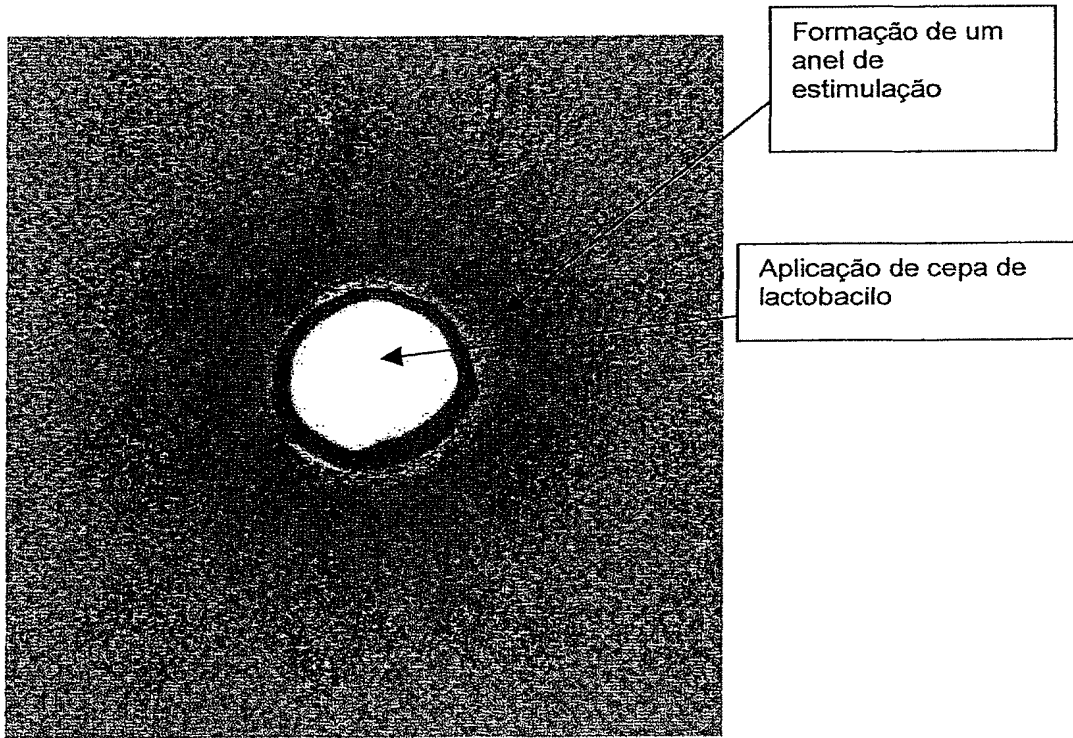
grupo consistindo de *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus delbrückii ssp. delbrückii* tendo número de acesso em DSMZ de DSM 18007, e número de acesso DSM 18006 ou um seu mutante ou derivado, sendo que dito mutante ou derivado retém a capacidade para inibir o crescimento de um ou mais  
5 microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibe o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele.

27. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 8 a 26, o kit de acordo com qualquer uma das  
10 reivindicações 4 ou 8 a 26 ou o uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 26, caracterizada(o) pelo fato de que dito microorganismo definido em (i) e/ou (ii) está em uma forma inativa.

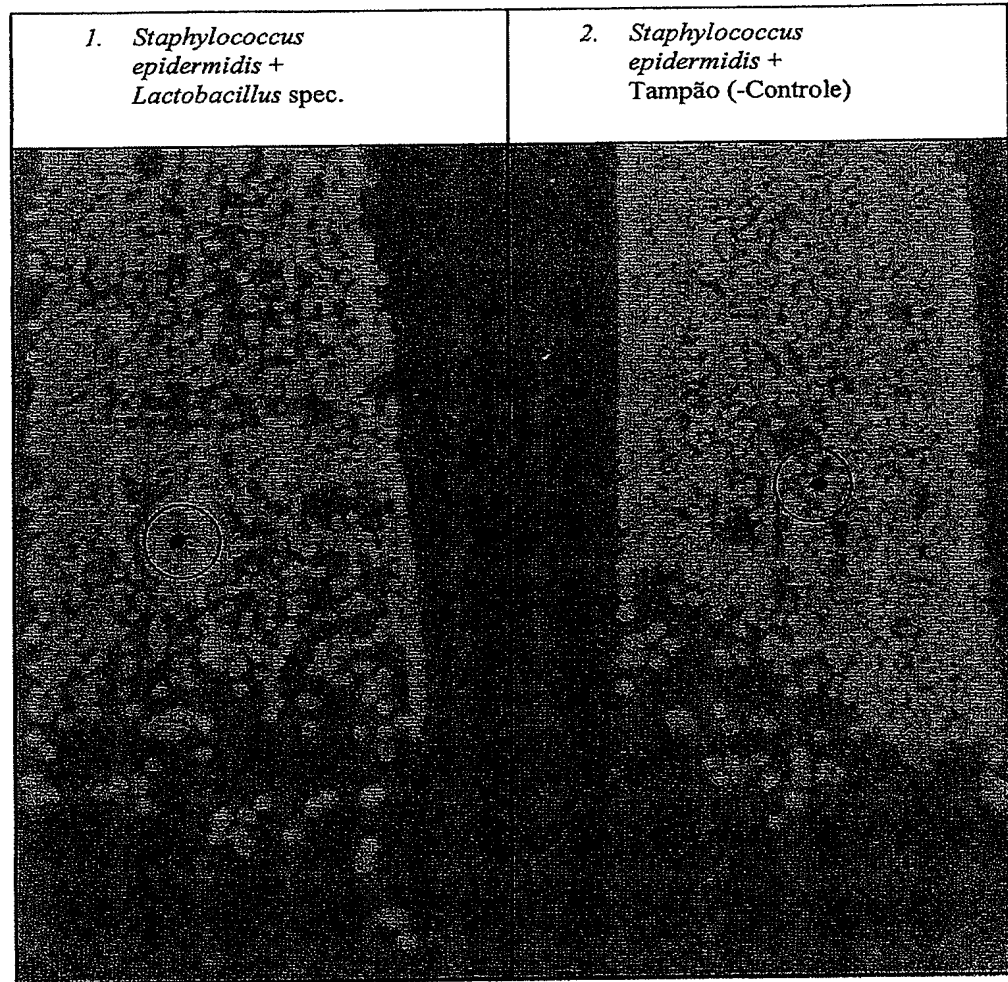
28. Composição, kit ou uso de acordo com a reivindicação 27, caracterizada(o) pelo fato de que dita forma inativa é uma forma termalmente  
15 inativada ou liofilizada.

29. Método para a produção da composição como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou 8 a 28 ou do kit como definido em qualquer uma das reivindicações 4 ou 8 a 28, caracterizado pelo fato de compreender a etapa de formular ditos microorganismos definidos em (i) e  
20 (ii) com um excipiente ou veículo cosmética ou farmacêuticamente aceitável.

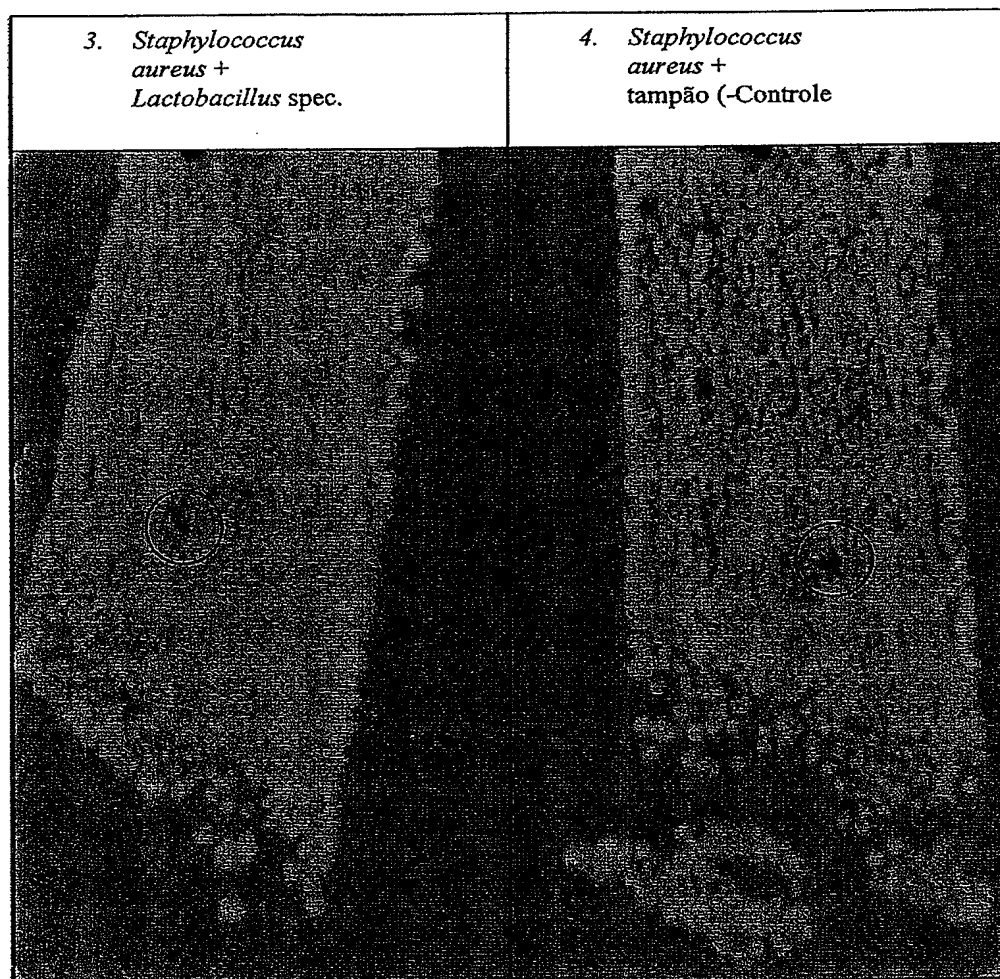
FIGURA 1



**FIGURA 2**



**FIGURA 3**



**FIGURA 4**

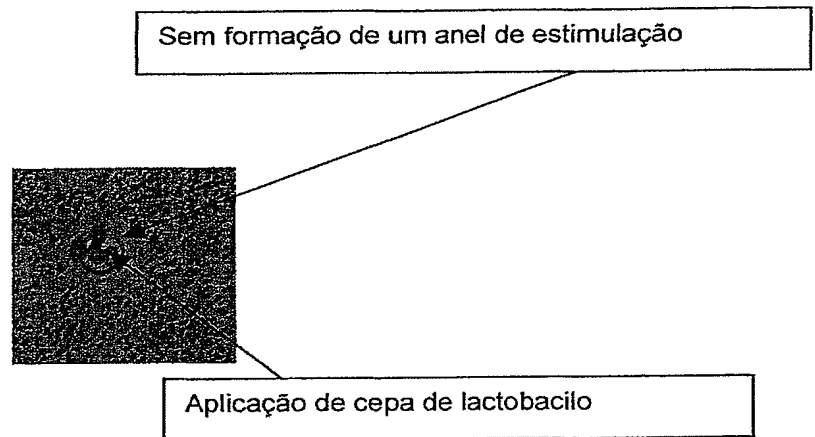


FIGURA 5

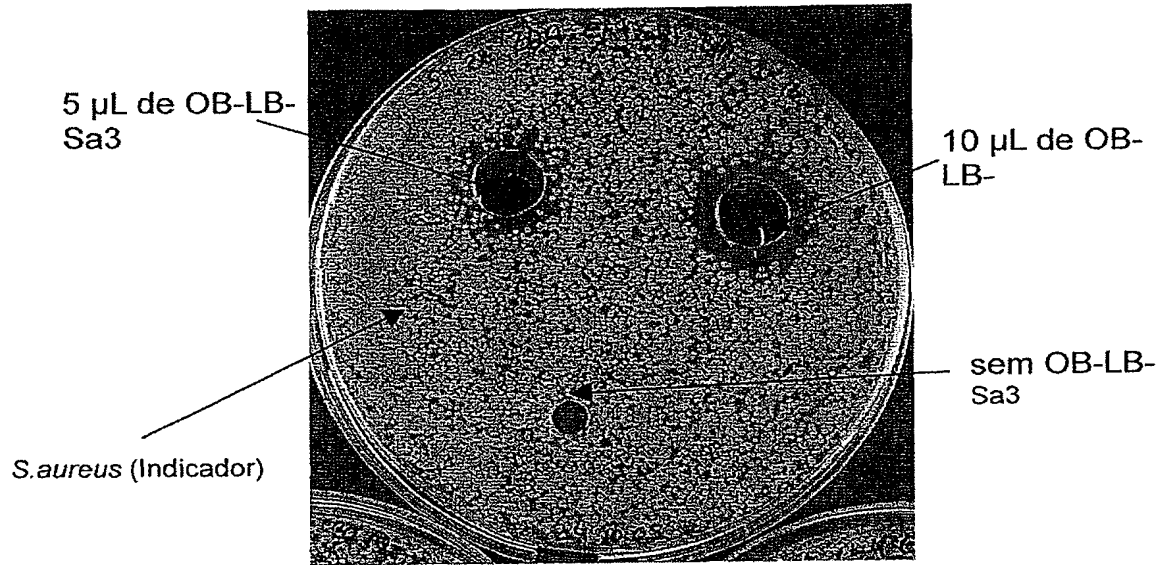


FIGURA 6

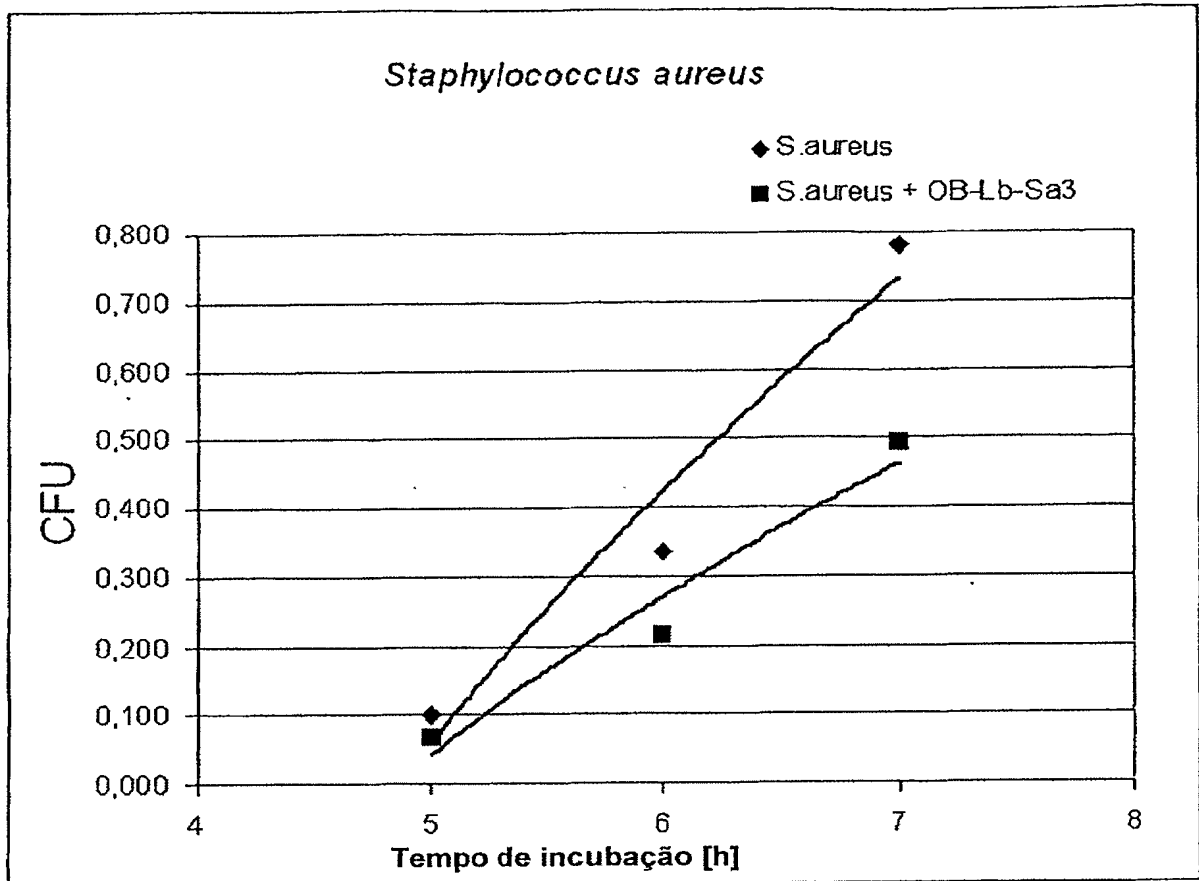


FIGURA 7

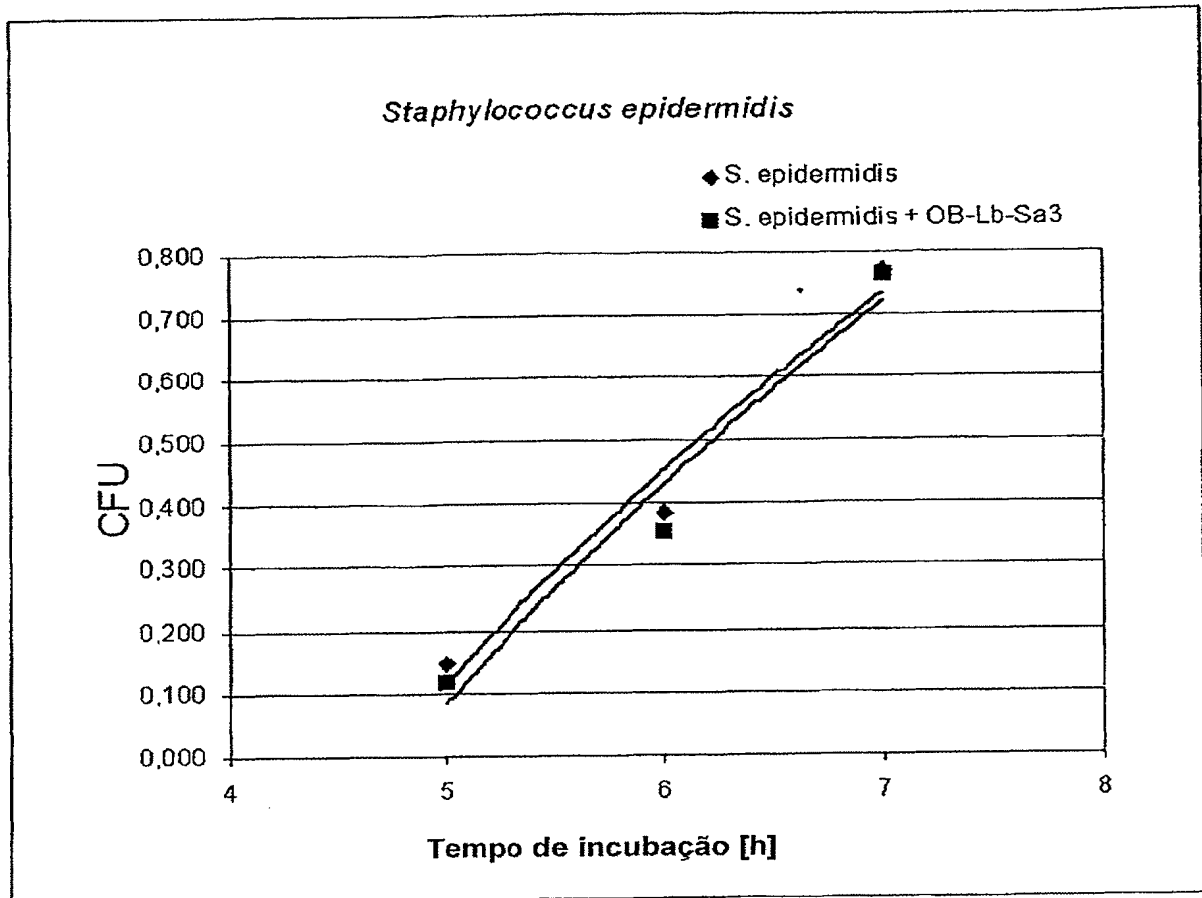


FIGURA 8

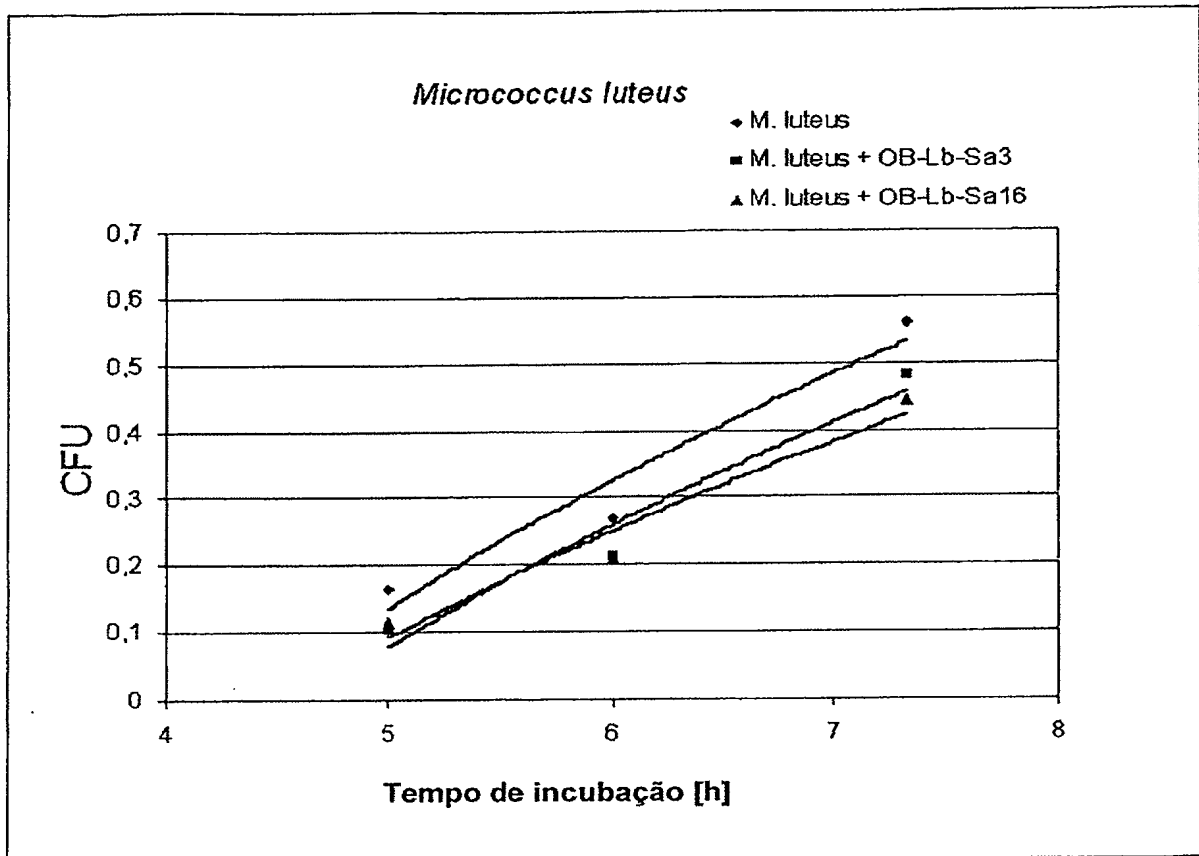
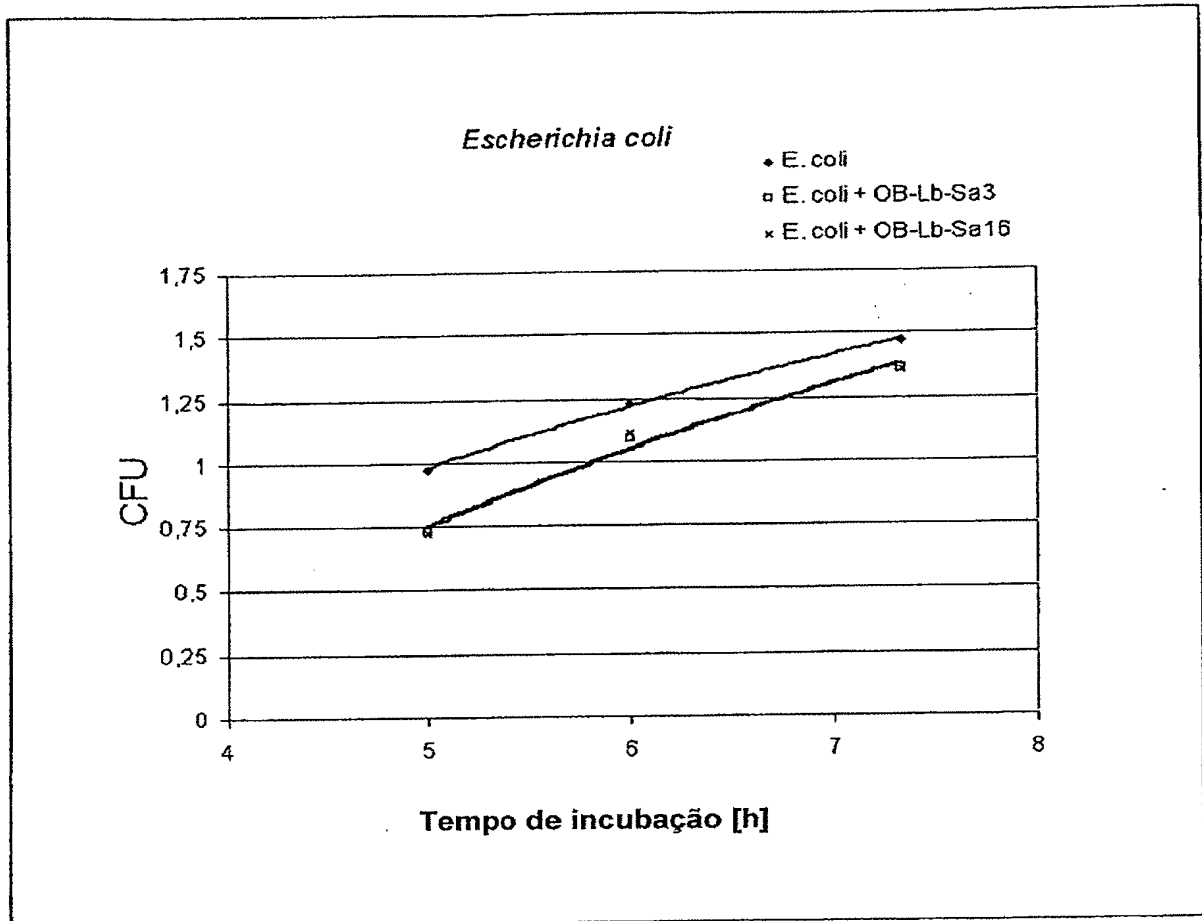
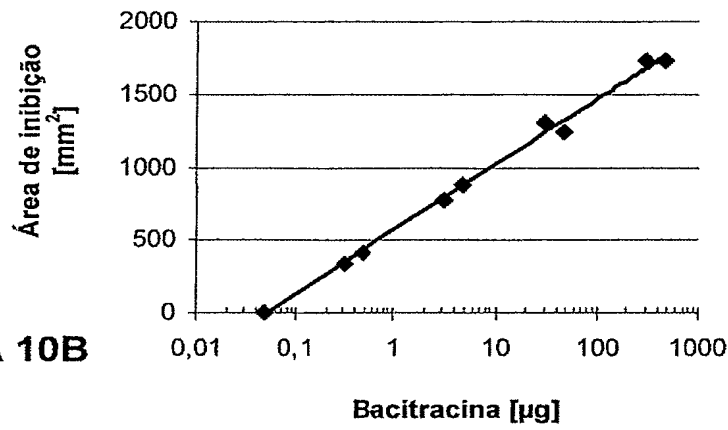
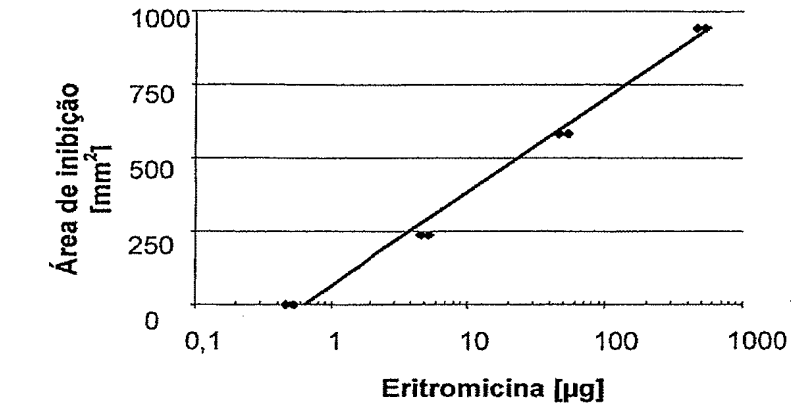


FIGURA 9

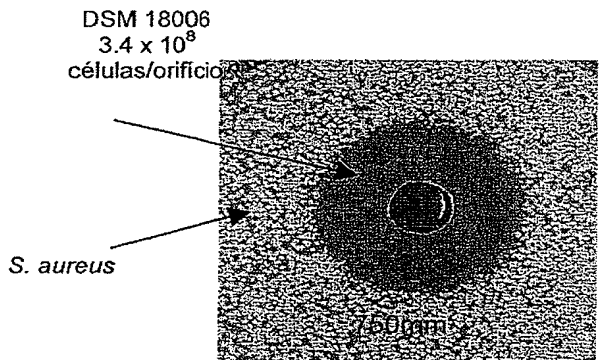


**FIGURA 10**

**FIGURA 10A:**



**FIGURA 10B**



Esta atividade inibitória corresponde a:

150µg de Bacitracina  
2,5µg de Eritromicina

# FIGURA 11

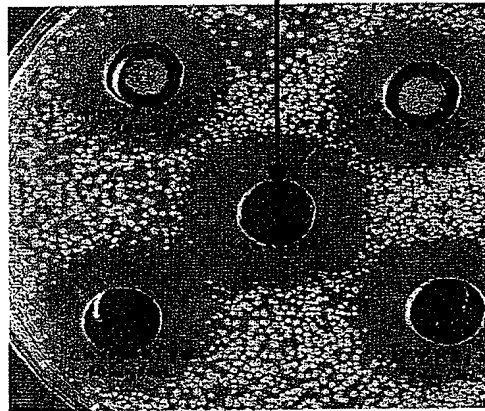
Teste com OB-LB-Sa3:

Proteinase K  
(10mg/mL)

controle

Protease de  
*Streptomyces griseus*  
(10mg/mL)

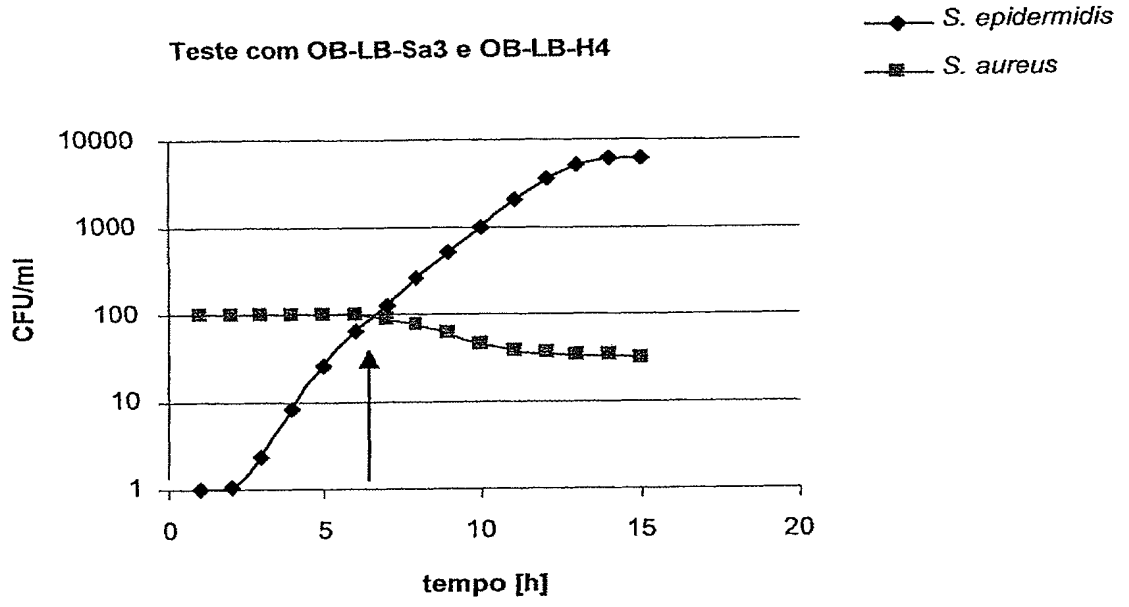
Quimotripsina  
(10mg/mL)



Tripsina  
(10mg/mL)

Indicador: *S. aureus*

FIGURA 12



RESUMO

“COMPOSIÇÃO, KIT, USO DE UMA COMBINAÇÃO DE MICROORGANISMOS, E, MÉTODO PARA A PRODUÇÃO DA COMPOSIÇÃO OU DO KIT”

5 São descritos composições e kits compreendendo: (i) microorganismos que são capazes de estimular o crescimento de microorganismos da flora microbiana residente da pele e que não estimulam o crescimento de microorganismos da microflora patogênica transiente e (ii) microorganismos que são capazes de inibir o crescimento de um ou mais  
10 microorganismos da microflora patogênica transiente da pele e que não inibem o crescimento de microorganismos da microflora residente normal saudável da pele, com o objetivo de proteger a pele contra microorganismos patogênicos e tratar doenças de pele. A presente invenção também se refere aos usos dos microorganismos mencionados acima e aos métodos para a  
15 produção de composições e kits compreendendo tais microorganismos.