(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 676 307**

(51) Int. CI.:

A61K 8/99 (2007.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.09.2008 E 08163529 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018 EP 2033627**

(54) Título: **Uso de un lisado de especies de Bifidobacterium para el tratamiento de pieles sensibles**

(30) Prioridad:

04.09.2007 FR 0757352

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.07.2018

(73) Titular/es:

L'OREAL (100.0%)
14, RUE ROYALE
75008 PARIS, FR

(72) Inventor/es:

BRETON, LIONEL;
GUENICHE, AUDREY y
CASTIEL, ISABELLE

(74) Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Uso de un lisado de especies de Bifidobacterium para el tratamiento de pieles sensibles

[0001] La presente invención tiene como objetivo proponer un nuevo agente especialmente útil para la prevención y/o el tratamiento de trastornos cutáneos indeseables y particularmente útil para la prevención y/o el tratamiento de trastornos cutáneos indeseables que pueden manifestarse en las pieles consideradas como «pieles sensibles».

[0002] De manera general, los trastornos cutáneos indeseables pueden manifestarse bajo dos aspectos: sensaciones de molestia sufridas a nivel de la piel y/o aparición de signos cutáneos visibles.

[0003] En cuanto a las sensaciones de molestia, normalmente puede tratarse de picores, de calentamiento, de sensaciones de cosquilleo, y/o de tirantez. A título representativo, en cuanto a los signos cutáneos visibles se pueden citar particularmente los pruritos, los herpes, los eritemas y/o las rojeces.

[0004] Estos trastornos cutáneos son más frecuentes en las zonas más expuestas del organismo, como las manos, los pies, la cara, y el cuero cabelludo.

[0005] Esta reactividad cutánea se traduce habitualmente en la manifestación de signos de molestia en respuesta al contacto del sujeto con un elemento desencadenante que puede tener diversos orígenes.

[0006] Estas reacciones cutáneas pueden producirse particularmente en las zonas sometidas a ciertos hábitos de higiene diaria o reiterados con frecuencia tales como el afeitado, la depilación, la limpieza con productos de aseo o productos domésticos, la aplicación de adhesivos (apósitos, parches, fijación de prótesis) o, en el caso de hábitos deportivos, profesionales o simplemente relacionados con el modo de vida y con el uso de ropa, de herramientas o de equipamientos que generan rozamientos localizados al tomar ciertos alimentos. Dichas reacciones pueden igualmente amplificarse debido a variaciones de temperatura, al viento y al estrés psicológico.

[0007] Se sabe además que el riesgo de manifestación de estas reacciones cutáneas se intensifica en el caso de las pieles sensibles.

[0008] Así, la aparición de signos de molestia, que aparecen en los minutos que siguen al contacto del sujeto con el elemento desencadenante, es una de las características esenciales de las pieles sensibles. Se trata principalmente de sensaciones disestésicas que son signos neurosensoriales. Se entiende por sensaciones disestésicas las sensaciones más o menos dolorosas experimentadas en una zona cutánea como el cosquilleo, el hormigueo, el picor o prurito, calentamiento, molestia, tirantez, etc. Estos signos subjetivos se dan la mayoría de las veces en ausencia de signos clínicos visibles tales como las descamaciones. Se sabe hoy que estas reacciones de intolerancia cutánea están particularmente relacionadas con una liberación de neuropéptidos a través de las terminaciones nerviosas de la epidermis y de la dermis.

[0009] En contraposición a las pieles consideradas como alérgicas, la manera de reaccionar de una piel sensible no se corresponde con un proceso inmunológico, es decir, no se produce en respuesta a la presencia de un alérgeno.

[0010] Además, su mecanismo de respuesta es llamado "inespecífico". En este sentido, cabe hacer la distinción con las pieles que manifiestan reacciones inflamatorias y alérgicas de tipo dermatosis, eczema, y/o ictiosis, para las que ya han sido propuestos diversos tratamientos.

[0011] Por razones evidentes, sería ventajoso disponer de composiciones capaces de prevenir y/o tratar estas manifestaciones de trastornos cutáneos indeseables.

[0012] La presente invención tiene precisamente por objeto responder a esta necesidad.

[0013] De manera inesperada, los inventores han constatado que ciertos microorganismos del género *Bifidobacterium species* podían resultar eficaces para la prevención y/o el tratamiento de trastornos cutáneos indeseables de las pieles sensibles a condición de que sean aplicados específicamente en forma de un lisado formado por todos los componentes biológicos intracelulares y los componentes de las paredes y membranas celulares.

[0014] El documento WO 02/28402 describe que ciertos microorganismos probióticos pueden tener un efecto beneficioso en la regulación de reacciones de hipersensibilidad cutánea como las reacciones inflamatorias y alérgicas que derivan de un proceso inmunológico. Se hace igualmente referencia en "Probiotics in the managment of atopic eczema, Clinical and Experimental Allergy 2000", volumen 30, páginas 1604-1610, a un estudio relacionado con el efecto de probióticos sobre los mecanismos inmunitarios infantiles como, por ejemplo, la dermatitis atópica. El documento US 5 756 088 describe un régimen alimenticio que comprende

particularmente un ácido graso poliinsaturado y/o biotina, y un Bifidobacterium, con efectos profilácticos y terapéuticos en las dermatosis animales.

[0015] Más recientemente, el documento EP 1 609 463 describe composiciones que asocian un microorganismo probiótico a un catión mineral para el tratamiento de las pieles sensibles y el documento EP 1 642 570 propone con el mismo propósito mezclas específicas de microorganismos probióticos. En cuanto al documento PCT/FR2006/050768, propone para el tratamiento de las pieles sensibles asociadas a una piel seca una asociación de un microorganismo probiótico con un ácido graso poliinsaturado y/o éster de ácido graso poliinsaturado.

[0016] El documento EP 1 731 137, por su parte, describe la ejecución de una mezcla *Lactobacillus paracasei* o *casei* y *Bifidobacterium lactis*, útil para el tratamiento de las pieles sensibles y/o secas.

[0017] Del mismo modo, FR 2 876 029 divulga la utilización de una mezcla de *Bactobacillus paracasei* o *casei* y *Bifidobacterium longum* para el tratamiento de las pieles sensibles y/o secas.

[0018] Sin embargo, ninguno de estos documentos tiene en consideración el empleo de un activo conforme a la presente invención, en forma de un lisado.

[0019] EP 0 043 128 da a conocer el empleo de un lisado de microorganismo como el lisado Repair Complex CLR, útil, por su parte, en el proceso de reparación del ADN de las células de la piel.

[0020] Así, según uno de sus primeros aspectos, la presente invención se refiere a un lisado de por lo menos un microorganismo del género *Bifidobacterium species* en una cantidad eficaz, para ser utilizado para prevenir y/o tratar un trastorno cutáneo en una piel sensible, estando dicho lisado formado por todos los componentes biológicos intracelulares y los componentes de las paredes y membranas celulares.

[0021] En efecto, los inventores de la presente invención han puesto en evidencia que el lisado de microorganismo del género *Bifidobacterium sp* podía tener una acción directa sobre las fibras nerviosas limitando la liberación de neuromediadores tales como los CGRP, al nivel cutáneo.

[0022] Así, la presente invención reside en la puesta en evidencia por los inventores de la aptitud de un lisado conforme a la invención para inhibir la actividad de las neuronas sensitivas tras una irritación, y del mismo modo, las propiedades calmantes de este lisado.

[0023] En el contexto de la invención, la expresión «trastorno cutáneo» cubre las sensaciones de molestia experimentadas por un sujeto de piel sensible, así como los signos cutáneos visibles y antiestéticos temporales que pueden afectar a este mismo sujeto.

[0024] Como se ha precisado previamente, las sensaciones de molestia pueden ser picores, calentamiento, cosquilleo y/o tirantez.

[0025] Estos trastornos indeseables conciernen especialmente a las personas que tienen la piel sensible, que poseen un umbral de reactividad reducido debido a una hiperactividad neurógena; por lo tanto, estas pieles van a presentar estas sensaciones y estos signos clínicos mucho más rápidamente y frecuentemente que los otros tipos de pieles.

[0026] Según otro de sus aspectos, la invención aspira a una cantidad eficaz de al menos un lisado de por menos un microorganismo, del género *Bifidobacterium*, para la utilización citada anteriormente, destinándose dicho lisado de microorganismo a la prevención y/o tratamiento de las manifestaciones de sensaciones disestésicas de las pieles sensibles.

[0027] Por lo tanto, la invención aspira particularmente a prevenir y/o disminuir las sensaciones de molestia cutánea, tales como, por ejemplo, los cosquilleos, hormigueos, picores o pruritos, calentamientos, molestias, eritemas y/o tiranteces, especialmente en las personas con pieles sensibles.

[0028] La presente invención aspira igualmente a una cantidad eficaz de al menos un lisado de por lo menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* para la utilización citada anteriormente, destinándose dicho lisado de microorganismo a la inhibición de la liberación de los neuromediadores cutáneos.

[0029] Según otro de sus aspectos, la presente patente describe la utilización de una cantidad eficaz de al menos un lisado de por lo menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* para la preparación de una composición, particularmente cosmética o dermatológica, destinada a prevenir y/o tratar trastornos cutáneos en particular de las pieles sensibles.

[0030] Según otro de sus aspectos, la presente patente describe un procedimiento, particularmente cosmético, para prevenir y/o tratar una piel sensible de un sujeto que comprende al menos la administración, particularmente tópica u oral a dicho sujeto, de al menos una cantidad eficaz de al menos un lisado de por lo menos un microorganismo del género *Bifidobacterium species* y/o fracción de éste.

[0031] Según otro más de sus aspectos, la invención tiene por objeto una composición, cosmética o dermatológica, útil para tratar y/o prevenir un trastorno cutáneo de una piel sensible, que comprende en un medio fisiológicamente aceptable al menos una cantidad eficaz de al menos un lisado de por lo menos un microorganismo del género *Bifidobacterium*, estando dicho lisado formado por todos los componentes biológicos intracelulares y los componentes de las paredes y membranas celulares, y en asociación a una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto que puede provocar una irritación cutánea y que comprende, además, un microorganismo probiótico anexo y/o un lisado de por lo menos un microorganismo anexo.

[0032] Por «cantidad eficaz» se entiende en el sentido de la presente invención una cantidad suficiente para obtener el efecto esperado.

[0033] En el sentido de la presente invención, «prevenir» significa disminuir el riesgo de manifestación de un fenómeno.

[0034] En el sentido de la presente invención, el término «tratar» significa paliar una disfunción fisiológica y, de forma más general, disminuir, incluso suprimir un trastorno indeseable y cuya manifestación es particularmente una consecuencia de esta disfunción.

[0035] Como se ha precisado previamente, las composiciones y utilizaciones según la invención resultan especialmente eficaces para proteger y/o tratar las pieles sensibles.

[0036] Una piel sensible es diferente a una piel alérgica. Su reactividad no responde a proceso inmunológico y se traduce habitualmente únicamente a través de sensaciones disestésicas.

[0037] Por razones evidentes, la ausencia de signos visibles hace que el diagnóstico de la piel sensible sea difícil. La mayor parte del tiempo este diagnóstico reside en el interrogatorio del paciente. Esta sintomatología tiene además por interés permitir diferenciar la piel sensible asociada o no a una piel seca de la irritación o de la alergia de contacto, para las que, en cambio, existen signos inflamatorios visibles.

[0038] En consecuencia, el desarrollo de productos para "pieles sensibles" ha requerido disponer de herramientas de evaluación de la reacción sensorial de la piel. Las primeras herramientas se han inspirado desde su concepción en la característica esencial de las pieles sensibles, como la presencia de signos de molestia inducidos por una aplicación tópica. Por ello, el «*stinging test*» con ácido láctico ha sido la primera prueba propuesta. Se realiza mediante un compendio de las sensaciones de hormigueo reportadas por un voluntario tras la aplicación de una solución de ácido láctico al 10 % en las aletas de la nariz. Los sujetos que muestran sensaciones moderadas o fuertes de hormigueo son llamados «*stingers*» y considerados como de piel sensible. En razón a esta sensibilidad cutánea al realizarse la aplicación tópica de producto, estos sujetos son entonces seleccionados para probar los productos llamados para pieles sensibles. Más recientemente, para activar específicamente las terminaciones nerviosas periféricas, involucradas en la molestia y llamadas nociceptores, recientemente identificadas como involucradas en la piel sensible, se han propuesto nuevas pruebas que utilizan precisamente otros inductores de molestias como la capsaicina.

[0039] Este segundo tipo de prueba, descrito en la solicitud EP 1 374 913, constituye asimismo otra herramienta particularmente útil para el diagnóstico de las pieles sensibles.

[0040] En el sentido de la presente invención, la expresión «pieles sensibles» cubre las pieles irritables y las pieles intolerantes.

[0041] Una piel intolerante es una piel que reacciona al menos mediante sensaciones de calentamiento, de tirantez, de hormigueo y/o de rojez, a diferentes factores tales como la aplicación de productos cosméticos o dermatológicos o de jabón. En general, estos signos se asocian a un eritema y a una piel hiperseborreica o acneica, incluso rosaceiforme, con o sin herpes.

[0042] Una piel irritable es una piel que reacciona mediante un prurito, es decir, mediante picores o mediante cosquilleo, a diferentes factores tales como el medio ambiente, las emociones, los alimentos, el viento, los rozamientos, la cuchilla, el agua dura con alta concentración de cal, las variaciones de temperatura, la humedad o la lana.

[0043] Se entiende que estas sensaciones pueden estar asociadas paralelamente a la manifestación de signos cutáneos. De manera general, este tipo de piel puede asociarse a una sequedad cutánea con o sin herpes o a una piel que presente un eritema. La sequedad cutánea se manifiesta esencialmente mediante una sensación de

tirantez y/o de tensión. También es rugosa al tacto y aparece cubierta de escamas. Cuando la piel está ligeramente seca, estas escamas son abundantes pero poco visibles a simple vista. Cuando este trastorno se agrava, son cada vez menos numerosas pero cada vez más visibles a simple vista.

[0044] En el marco de la presente invención, las pieles sensibles consideradas no manifiestan un carácter inflamatorio.

Lisado de Microorganismo(s)

[0045] Como se ha precisado previamente, según la invención, se emplea al menos un lisado de por lo menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en concepto de activos. Un lisado designa comúnmente un material obtenido como resultado de la destrucción o disolución de células biológicas mediante un fenómeno llamado lisis celular que provoca la liberación de los componentes biológicos intracelulares naturalmente contenidos en las células del microorganismo considerado.

[0046] En el sentido de la presente invención, el término lisado se utiliza para designar la totalidad del lisado obtenido mediante lisis del microorganismo concernido.

[0047] El lisado empleado está por tanto formado por los componentes biológicos intracelulares y los componentes de las paredes y membranas celulares.

[0048] Más precisamente, contiene la fracción citoplásmica celular que contiene las enzimas, tales como la deshidrogenasa de ácido láctico, las fosfatasas, las fosfocetolasas, transaldolasas y los metabolitos. A título ilustrativo, los componentes de las paredes celulares son particularmente el peptidoglicano, la mureína o mucopéptido y el ácido teicoico y los componentes de las membranas celulares están compuestos por glicerofosfolípidos.

[0049] Esta lisis celular puede llevarse a cabo mediante diferentes tecnologías, tales como, por ejemplo, choque osmótico, choque térmico, mediante ultrasonidos, o incluso bajo tensión mecánica de tipo centrifugado, por ejemplo.

[0050] Más en particular, este lisado puede obtenerse según la tecnología descrita en la patente US 4 464 362 y particularmente según el protocolo siguiente.

[0051] El microorganismo considerado de tipo *Bifidobacterium species* se cultiva anaeróbicamente en un medio de cultivo adecuado, por ejemplo según las condiciones descritas en los documentos US 4 464 362 y EP 43 128. Cuando se alcanza la fase estacionaria del desarrollo, el medio de cultivo se puede inactivar mediante pasteurización, por ejemplo a una temperatura de 60 a 65 °C durante 30 min. Se recogen entonces los microorganismos mediante una técnica de separación convencional, por ejemplo filtración por membrana, centrifugación y suspensión en una solución NaCl fisiológica estéril.

[0052] El lisado puede obtenerse mediante desintegración con ultrasonidos de tal medio con el fin de liberar las fracciones citoplásmicas, los fragmentos de pared celular y los productos resultado del metabolismo. A continuación, todos los componentes en su distribución natural se estabilizan en una solución acuosa débilmente ácida.

[0053] Se obtiene así habitualmente una concentración del orden 0,1 a 50%, en particular de 1 a 20 % y particularmente aproximadamente 5 % en peso de materia(s) activa(s) respecto al peso total del lisado.

[0054] El lisado puede hacerse de diferentes formas, en forma de una solución o en forma pulverulenta.

[0055] El microorganismo perteneciente al género *Bifidobacterium* es, más en particular, escogido entre las especies*: Bifidobacterium longum, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium animalis, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium adolescentis* o *Bifidobacterium pseudocatenulatum* y sus mezclas.

[0056] Conviene especialmente para la invención la especie *Bifidobacterium longum*.

[0057] El término fracción designa más en particular un fragmento de dicho microorganismo o una parte de dicho lisado de microorganismo, dotado de una eficacia para el tratamiento de las epidermis secas por analogía a dicho microorganismo entero o a dicho lisado en su totalidad.

[0058] El producto comercializado con el nombre Repair Complex CLR® por la empresa K. RICHTER GmbH y que está formado por un lisado inactivado de la especie *Bifidobacterium longum* se encuadra en el marco de la invención.

[0059] El activo que forma el lisado perteneciente al género *Bifidobacterium species* se puede formular en una proporción de al menos 0,0001 % (expresado en peso seco), en particular en una proporción de 0,001 a 20% y más en particular en una proporción de 0,001 a 2 % en peso respecto al peso total del soporte o de la composición que lo contiene.

[0060] Ventajosamente, según la invención, se emplea un lisado de una sola especie de microorganismo, particularmente probiótico.

[0061] Según una variante de la invención, este lisado puede emplearse en asociación con otro microorganismo o lisado de éste o fracción de éstos.

[0062] Así, según una forma de realización particular de la invención, las composiciones según la invención pueden además contener un lisado anexo de al menos un microorganismo anexo, particularmente de tipo probiótico y/o fracción de éste.

[0063] Sin embargo, cuando el microorganismo anexo pertenece a la misma especie que la que compone el lisado requerido según la invención, se emplea preferiblemente de forma diferente a un lisado.

[0064] En cambio, cuando el microorganismo anexo pertenece a una especie diferente a la que compone el lisado requerido según la presente invención, se emplea igualmente en forma de lisado.

[0065] En el sentido de la presente invención, se entiende por «microorganismo probiótico» un microorganismo vivo que, cuando se consume en la cantidad adecuada, tiene un efecto positivo en la salud de quien lo consume «joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Healt and Nutritional Properties of Probiotic in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, 6 octubre 2001», y que puede en particular mejorar el equilibrio microbiano intestinal.

[0066] Estos microorganismos apropiados para la invención se escoger particularmente de entre los ascomicetos tales como Saccharomyces, *Yarrowia, Kluyveromyces, Torulaspora, Schizosaccharomyces pombe, Debaromyces, Candida, Pichia, Aspergillus* y *Penicillium*, bacterias del género *Bacteroides, Fusobacterium, Melissococcus, Propionibacterium, Enterococcus, Lactococcus, Staphylococcus, Peptostrepococcus, Bacillus, Pediococcus, Micrococcus, Leuconostoc, Weissella, Aerococcus, Oenococcus* y *Lactobacillu*s y sus mezclas.

[0067] Como ascomicetos especialmente apropiados a la presente invención, se puede en particular citar *Yarrowia lipolitica y Kluyveromyces lactis*, al igual que *Saccharomyces cereviseae, Torulaspora, Schizosaccharamyces pombe, Candida* y *Pichia*.

[0068] Son ejemplos específicos de microorganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus alimentarius, Lactobacillus curvatus, Lactobacillus delbruckii subsp. Lactis, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus johnsonii, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus rhamnosus (Lactobacillus GG), Lactobacillus sake, Lactococcus lactis, Streptococcus thermophilus, Staphylococccus carnosus,* y *Staphylococcus xylosus* y sus mezclas.

[0069] Más en particular, se trata de microorganismos probióticos procedentes del grupo de las bacterias lácticas, como particularmente los *Lactobacillus*. A título ilustrativo de estas bacterias lácticas, se pueden citar más en particular los *Lactobacillus johnsonii, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus rhamnosus* y sus mezclas.

[0070] Las especies especialmente apropiadas son los *Lactobacillus johnsonii*, en particular la cepa depositada según el tratado de Budapest con el Instituto Pasteur (28 rue du Docteur Roux, F-75024 Paris cedex 15) bajo la designación siguiente CNCM I-1225.

[0071] De manera general, las composiciones para aplicación tópica según la invención comprenden habitualmente de 0,0001 a 30%, en particular de 0,001 a 15 % y más en particular de 0,1 a 10 % en peso de uno o varios microorganismos particularmente probióticos, anexos.

[0072] Habitualmente, las composiciones para aplicación tópica según la invención comprenden de 0,05 a 20%, en particular de 0,5 a 15 % y más en particular de 0,5 a 10% en peso de lisado de al menos un microorganismo, particularmente probiótico, anexo.

[0073] Este o estos microorganismo(s) puede(n) por lo tanto ser incluido(s) en las composiciones según la invención vivos, semiactivos o inactivados, muertos.

[0074] En caso de que estos microorganismos se formulen en una composición vivos, la cantidad de microorganismos vivos puede variar de 10^3 a 10^{15} ufc/g, en particular de 10^5 a 10^{15} ufc/g y más en particular de 10^7 a 1012 ufc/g de microorganismos por gramo de composición.

[0075] En el caso particular de que el/los microorganismo(s) se formule(n) en composiciones de administración por vía oral, la concentración de microorganismo(s) particularmente probiótico(s) se puede ajustar para que corresponda(n) a dosis (expresadas en equivalente de microorganismo) que varían de 5.10^5 a 10^{13} ufc/j y en particular de 10^7 a 10^{11} ufc/j.

[0076] En el caso particular de que el lisado de microorganismo(s) se formule en composiciones de administración por vía oral, la concentración inicial de microorganismo(s), particularmente probiótico(s), se puede ajustar para que corresponda a dosis (expresadas en equivalente de microorganismo) que varían de 5.10^5 a 10^{13} ufc/j y en particular de 10^7 a 10^{11} ufc/j.

[0077] Puede(n) igualmente incluirse en forma de fracciones de componentes celulares. El o los microorganismo(s), o fracción(es) puede(n) igualmente ser introducido(s) en forma de un polvo, de un líquido, de un sobrenadante de cultivo o una de sus fracciones, diluido(s) o no, o incluso concentrado(s) o no.

[0078] Según una variante, las composiciones pueden igualmente contener un catión mineral divalente.

[0079] Las composiciones según la invención pueden presentarse en todas las formas galénicas normalmente disponibles para el modo de administración adoptado.

[0080] El soporte puede ser de diversos tipos según el tipo de composición considerada.

[0081] En lo que se refiere más en particular a las composiciones destinadas a una administración por vía tópica externa, es decir, en la superficie de la piel, puede tratarse de soluciones acuosas, hidroalcohólicas u oleosas, de dispersiones del tipo de las soluciones o dispersiones del tipo loción o suero, de emulsiones de consistencia líquida o semilíquida del tipo leche, de suspensiones o emulsiones, del tipo crema, de gel acuoso o anhidro, de microemulsiones, de microcápsulas, de micropartículas, o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico.

[0082] Estas composiciones son separadas según los métodos usuales.

[0083] Estas composiciones pueden constituir particularmente cremas de limpieza, de protección, de tratamiento o de cuidado para la cara, para las manos, para los pies, para los grandes pliegues anatómicos o para el cuerpo, (por ejemplo cremas de día, cremas de noche, cremas desmaquillantes, cremas de base de maquillaje, cremas de protección solar), productos de maquillaje como bases de maquillaje fluidos, leches desmaquillantes, leches corporales de protección o de cuidado, leches para después de la exposición al sol, lociones, geles o espumas para el cuidado de la piel, como lociones de limpieza o de desinfección, lociones de protección solar, lociones de bronceado artificial, composiciones para el baño, composiciones desodorantes que contienen un agente bactericida, geles o lociones para después del afeitado, cremas depilatorias, o composiciones contra las picaduras de insectos.

[0084] Las composiciones según la invención pueden igualmente consistir en preparados sólidos para jabones o pastillas limpiadoras.

[0085] Pueden ser igualmente utilizadas para el cuero cabelludo en forma de soluciones, de cremas, de geles, de emulsiones, de espumas o incluso en forma de composiciones para aerosol que contengan igualmente un agente propulsor a presión.

[0086] Cuando la composición de la invención es una emulsión, la proporción de la fase grasa puede ir de 5 a 80 % en peso, y preferiblemente de 5 a 50 % en peso respecto al peso total de la composición. Los aceites, los emulsionantes y los coemulsionantes utilizados en la composición en forma de emulsión son escogidos de entre aquellos habitualmente utilizados en el ámbito cosmético y/o dermatológico. El emulsionante y el coemulsionante pueden estar presentes, en la composición, en una proporción que va de 0,3 a 30 % en peso, y preferiblemente de 0,5 a 20 % en peso respecto al peso total de la composición.

[0087] Cuando la composición de la invención es una solución o un gel oleoso, la fase grasa puede representar más del 90 % del peso total de la composición.

[0088] Como se sabe, las formas galénicas dedicadas a una administración tópica pueden contener igualmente los adyuvantes habituales en el ámbito cosmético, farmacéutico y/o dermatológico, tales como los gelificantes hidrófilos o lipófilos, los activos hidrófilos o lipófilos, los conservantes, los antioxidantes, los solventes, los perfumes, las cargas, los filtros, los bactericidas, los absorbentes de olor y las materias colorantes. Las cantidades de todos estos adyuvantes son las utilizadas habitualmente en el ámbito considerado, y, por ejemplo, de 0,01 a 20 % del peso total de la composición. Estos adyuvantes, según su naturaleza, pueden ser introducidos en la fase grasa y/o en la fase acuosa.

[0089] Como materias grasas utilizables en la invención, se pueden citar los aceites minerales como por ejemplo el poliisobuteno hidrogenado y el aceite de vaselina, los aceites vegetales como por ejemplo una fracción líquida

de la manteca de karité, aceite de girasol y de hueso de albaricoque, los aceites animales como por ejemplo el perhidroescualeno, los aceites de síntesis particularmente el aceite de Purcelín, el miristato de isopropilo y el palmitato de etilo hexilo, los ácidos grasos insaturados y los aceites fluorados como por ejemplo los perfluoropoliéteres. Se puede también utilizar alcoholes grasos, ácidos grasos como por ejemplo el ácido esteárico y como por ejemplo las ceras particularmente de parafina, carnaúba y la cera de abejas. También se puede utilizar compuestos siliconados como los aceites siliconados y por ejemplo la ciclometicona y dimeticona, las ceras, las resinas y las gomas siliconadas.

[0090] Como emulsionantes utilizables en la invención, se pueden citar por ejemplo el estearato de glicerol, el polisorbato 60, la mezcla alcohol cetilestearílico /alcohol cetilestearílico oxietilenado de 33 moles de óxido de etileno vendido con el nombre Sinnowax AO® por la empresa HENKEL, la mezcla de PEG-6/PEG-32/Estearato de Glicol vendido con el nombre de Tefose® 63 por empresa GATTEFOSSE, el PPG-3 miristil éter, los emulsionantes siliconados tales como la cetildimeticona copoliol y el mono- o triestearato de sorbitano, el estearato de PEG-40, el monoestearato de sorbitano oxietilenado (20OE).

[0091] Como solventes utilizables en la invención, se pueden citar los alcoholes inferiores, particularmente el etanol y el isopropanol, el propilenglicol.

[0092] La composición de la invención puede igualmente contener de manera ventajosa una agua termal y/o mineral, particularmente escogida de entre el agua de Vittel, las aguas de la cuenca de Vichy y el agua de la Roche Posay.

[0093] Como gelificantes hidrófilos, se pueden citar los polímeros carboxílicos como el carbómero, los copolímeros acrílicos tales como los copolímeros de acrilatos/aquilacrilatos, las poliacrilamidas y particularmente la mezcla de poliacrilamida, C13-14-Isoparafina y Laureth-7 vendida bajo el nombre de Sepigel 305® por la empresa SEPPIC, los polisacáridos como los derivados celulósicos tales como las hidroxialquilcelulosas y en particular los hidroxipropilcelulosa e hidroxietilcelulosa, las gomas naturales tales como las guar, algarroba y xantano y las arcillas.

[0094] Como gelificantes lipófilos, se pueden citar las arcillas modificadas como las bentonas, las sales metálicas de ácidos grasos como los estearatos de aluminio y el sílice hidrófobo, o incluso la etilcelulosa y el polietileno.

[0095] En el caso de un uso para administración por vía oral, se considera la utilización de un soporte comestible.

[0096] Convienen particularmente como soportes alimenticios o farmacéuticos la leche, el yogur, el queso, las leches fermentadas, los productos fermentados a base de leche, helados, productos a base de cereales fermentados, polvos a base de leche, fórmulas para niños y bebés, productos alimenticios de tipo confitería, chocolate, cereales, alimentos para animales en particular domésticos, comprimidos, cápsulas o tabletas, suplementos orales en forma seca y los suplementos orales en forma líquida.

[0097] Para la ingesta, existen numerosas formas de realización de composiciones orales y particularmente de complementos alimenticios. Su formulación se realiza mediante los procedimientos usuales para producir grageas, cápsulas duras, geles, emulsiones, comprimidos, cápsulas blandas. En particular, el(los) activo(s) según la invención puede(n) incorporarse en cualquier otra forma de complementos alimenticios o de alimentos enriquecidos, por ejemplo barritas energéticas, o polvos compactados o no. Los polvos pueden diluirse con agua, en refresco, en productos lácteos o derivados de la soja, o incorporase en barritas energéticas.

[0098] Según una forma de realización particular, los microorganismos anexados pueden formularse dentro de composiciones en forma encapsulada para mejorar significativamente su tiempo de vida. En tal caso, la presencia de una cápsula puede en particular retrasar o evitar el deterioro del microorganismo en el tracto gastrointestinal.

[0099] Por supuesto, las composiciones tópicas externas u orales, o asociaciones según la invención, pueden además contener otros activos.

[0100] A título de activos convencionalmente aplicados, se pueden citar las vitaminas B3, B5, B6, B8, C, E, o PP, la niacina, los carotenoides, los polifenoles y minerales tales como zinc, calcio, magnesio...

[0101] En particular, se puede utilizar un complejo antioxidante que comprende las vitaminas C y E, y al menos un carotenoide, particularmente un carotenoide elegido entre el β-caroteno, el licopeno, la astaxantina, la zeaxantina y la luteína, los flavonoides tales como las catequinas, la hesperidina, las proantocianidinas y las antocianinas.

[0102] Puede igualmente tratarse de al menos un prebiótico o una mezcla de prebióticos. Más en particular, estos prebióticos pueden escogerse de entre los oligosacáridos, producidos a partir de la glucosa, galactosa, xilosa, maltosa, sacarosa, lactosa, almidón, xilano, la hemicelulosa, la inulina, las gomas de tipo acacia por

ejemplo, o una de sus mezclas. Más en particular, el oligosacárido comprende al menos un fructoligosacárido. Más en particular, este prebiótico puede comprender una mezcla de fructoligosacárido y de inulina.

[0103] En las formas galénicas tópicas, se pueden utilizar más en particular como activos hidrófilos las proteínas o los hidrolizados de proteína, los aminoácidos, los polioles particularmente en C_2 a C_{10} como la glicerina, sorbitol, butileno glicol y polietilenglicol, la urea, la alantoína, los azúcares y los derivados de azúcar, las vitaminas hidrosolubles, el almidón, los extractos bacterianos o vegetales como aquellos de aloe Vera.

[0104] En cuanto a los activos lipófilos, se puede utilizar el retinol (vitamina A) y sus derivados, el tocoferol (vitamina E) y sus derivados, las ceramidas, los aceites esenciales y los insaponificables (tocotrienol, sesamina, gamma orizanol, fitosteroles, escualenos, ceras, terpenos).

[0105] Según una variante de la invención, el lisado conforme a la invención puede llevarse a cabo en una composición tópica destinada a la piel con al menos un agente con efecto secundario irritante.

[0106] En efecto, compuestos tópicos cuyo uso puede, en circunstancias particulares tales como una piel reactiva a las concentraciones elevadas de dichos compuestos..., conducir a la aparición de sensaciones de molestia y/o signos cutáneos, se utilizan en composiciones cosméticas o dermatológicas, por supuesto, para otros efectos.

[0107] Además, incluso ciertos compuestos que se consideran como inertes en una composición cosmética o dermatológica, tales como, por ejemplo, los conservantes, los tensioactivos, los perfumes, los solventes o los propulsores, pueden presentar un carácter irritante cuando éstos se aplican sobre las materias queratínicas y particularmente la piel, incluido el cuero cabelludo, dependiendo este carácter irritante del compuesto utilizado y de la sensibilidad de la piel y de la flora cutánea residente del usuario.

[0108] Más en particular, a título de activos dermatológicos o cosméticos susceptibles de tener un efecto colateral irritante se pueden citar ciertos agentes descamantes.

[0109] Entre estos agentes descamantes los siguientes pueden provocar una irritación de la piel: los ácidos monocarboxílicos saturados (ácido acético) e insaturados, los ácidos dicarboxílicos saturados e insaturados, los ácidos tricarboxílicos saturados e insaturados; los α-hidroxiácidos y β-hidroxiácidos de los ácidos monocarboxílicos; los α-hidroxiácidos y β-hidroxiácidos de los ácidos dicarboxílicos; los α -hidroxiácidos y β-hidroxiácidos de los ácidos tricarboxílicos, los cetoácidos, los α-cetoácidos, los β-cetoácidos de ácidos policarboxílicos, de ácidos polihidroxi monocarboxílicos, de ácidos polihidroxi bicarboxílicos y de ácidos polihidroxi tricarboxílicos.

[0110] De manera particular, entre los α-hidroxiácidos o sus ésteres se pueden citar: los ácidos glicólico, dioico como el ácido octadeceno dioico o Arlatone dioc DCA vendido por la empresa Uniqema, cítrico, láctico, tártrico, málico o mandélico, sus ésteres como el tartrato de dialquilo (C12/C13) o Cosmacol ETI, el citrato de trialcoholes C12-13 ramificados o Cosmaco1 ECI comercializado por la empresa SASOL.

[0111] Entre los β -hidroxiácidos se pueden citar: el ácido salicílico y sus derivados (como el ácido n-octanoil 5-salicílico).

[0112] Entre los otros agentes descamantes se pueden citar: los ácidos pirúvico, glucónico, glucurónico, oxálico, malónico, succínico, acético, gentísico, cinámico, azelaico; el fenol; la resorcina; la urea y sus derivados, el hidroxietil urea o hydrovance® de NATIONAL STARCH; las oligofucosas; el ácido jasmónico y sus derivados; el ácido tricloracético; el extracto de Saphora japonica y el resveratrol.

[0113] Entre los agentes descamantes, aquellos capaces de actuar sobre las enzimas implicadas en la descamación o el deterioro de los corneodesmosomas pueden igualmente provocar una irritación de la piel.

[0114] Entre éstos, se pueden citar particularmente los agentes quelantes de las sales minerales tales como el EDTA; el ácido N-acil-N,N',N' etileno diaminatriacético; los compuestos aminosulfónicos y en particular el ácido (N-2 hidroxietilpiperazina-N-2-etano)sulfonico (HEPES); los derivados del ácido 2-oxotiazolidina-4-carboxílico (procisteína); los derivados de ácidos alfa aminados de tipo glicina (tales como se describen en EP 0 852 949, así como el metilglicinadiacetato de sodio comercializado por BASF con el nombre comercial TRILON M®); la miel; los derivados de azúcar tales como el O-octanoil-6-D-maltosa, la O-linoleil-6-D-glucosa y la N-acetil glucosamina. (conservar ?)sí conservar

[0115] Los retinoides también son compuestos que pueden provocar una irritación de la piel. Se pueden, por ejemplo, citar entre ellos el retinol y sus ésteres, el retinaldehído, el ácido retinoico y sus derivados tales como aquellos descritos en los documentos FR-A-2 570 377; EP-A-199 636; EP-A-325 540; EP-A-402 072, y el adapaleno.

[0116] Las sales y derivados, como las formas cis o trans, las mezclas racémicas, las formas dextrógiras o levógiras de los compuestos citados previamente también se consideran como compuestos que pueden provocar una irritación de la piel.

[0117] Otros activos dermatológicos o cosméticos que pueden provocar como efecto secundario una irritación de la piel son igualmente citados a continuación:

- la urea y derivados como la hidroxietil urea o hydrovance® de NATIONAL STARCH,
- la vitamina D y sus derivados, tales como la vitamina D3, la vitamina D2, el calcitriol, el calcipotriol, el tacalcitol, la 24,25-diOH vitamina D3, la 1-OH vitamina D2 y la 1,24-diOH vitamina D2; la vitamina B9 y sus derivados,
- los peróxidos como el peróxido de benzoílo, el agua oxigenada,
- los anticaída tales como el minoxidil y sus derivados como el aminexil,
- los tintes y los colorantes capilares como los aminofenoles y sus derivados, tales como la parafenilendiamina (p-PDA), la N-fenil p-PDA, el sulfato de toluen-2,5-diamina, la meta-fenilendiamina (m-PDA), la toluen-3,4-diamina y la orto-fenilendiamina (o-PDA),
- los agentes antitranspirantes como las sales de aluminio, por ejemplo el hidroxicloruro de aluminio,
- los activos de permanentes tales como los tioglicolatos, el amoniaco,
- el tioglicolato y sus sales,
- el fenoxietanol,
- el 1,2-pentanodiol,
- las soluciones alcohólicas perfumantes (perfumes, aguas de colonia, lociones para después del afeitado, desodorantes)
- las antralinas (dioxiantranol),
- los antranoides (por ejemplo aquellos descritos en el documento EP-A- 319028),
- las sales de litio,
- los despigmentantes (ex: hidroquinona, vitamina C en concentración alta, ácido kójico),
- ciertos activos adelgazantes con efecto calor,
- los nicotinatos y sus derivados,
- la capsaicina,
- los activos antipiojos (piretrina),
- los antiproliferativos tales como el 5-fluoro uracilo o el metotrexato,
- los agentes antivirales,
- los antiparasitarios,
- los antifúngicos,
- los antipruriginosos,
- los antiseborreicos,
- ciertos filtros solares,
- los propigmentantes tales como los psoralenos y las metilangecilinas, y
- sus mezclas.

[0118] Según una forma de realización preferida de la invención, el compuesto que puede provocar como efecto secundario una irritación de la piel se escogido de los retinoides, los α-hidroxiácidos los β-hidroxiácidos los ácidos dicarboxílicos saturados e insaturados tales como el ácido octadeceno dioico o Arlatone DIOC DCA vendido por la empresa Uniqema, los tensioactivos aniónicos, catiónicos o anfóteros, el ácido n-octanoil 5-salicílico, los activos antitranspirantes tales como las sales de aluminio, el ácido (N-2 hidroxietilpiperazina-N-2-etano) sulfónico (HEPES) y el ácido cinámico.

[0119] El compuesto que puede provocar como efecto secundario una irritación de la piel puede estar presente en la composición según la presente invención en una cantidad suficiente para provocar una reacción de irritación de la piel. Como ejemplo, puede estar presente en una cantidad que va de 0,0001 a 70 % en peso, preferiblemente de 0,01 a 50 % en peso y mejor de 0,1 a 30 % en peso respecto al peso total de la composición.

[0120] Como otros activos que se pueden asociar de forma particular al lisado en una fórmula galénica oral se pueden igualmente considerar todos los ingredientes comúnmente utilizados y/o autorizados.

[0121] A título ilustrativo, se pueden citar las vitaminas, los minerales, los lípidos esenciales, los oligoelementos, los polifenoles, los flavonoides, los fitoestrógenos, los antioxidantes tales como el ácido lipoico y la coenzima Q10, los carotenoides, los probióticos, los prebióticos, las proteínas y los aminoácidos, los mono y polisacáridos, los amino-azúcares, los fitosteroles y alcoholes triterpénicos de origen vegetal.

[0122] Se trata, en particular, de las vitaminas A, C, D, E, PP y del grupo B. Entre los carotenoides, se escoge preferiblemente, el betacaroteno, el licopeno, la luteína, la zeazantina y la astaxantina. Los minerales y oligoelementos particularmente utilizados son el zinc, el calcio, el magnesio, el cobre, el hierro, el yodo, el manganeso, el selenio, el cromo (III). Entre los polifenoles, se comprenden también en particular los polifenoles de uva, de té, de oliva, de cacao, de café, de manzana, de mirtilo, de saúco, de fresa, de arándano rojo y de

cebolla. Preferiblemente entre los fitoestrógenos, se comprenden las isoflavonas en forma libre o glicosilada, tales como la genisteína, la daidzeína, la gliciteina o incluso los lignanos, en particular aquellos del lino y de la Schisandra chinensis. Los probióticos se escogen preferiblemente del grupo constituido por los lactobacilos y las bifidobacterias.

Los aminoácidos o los péptidos y las proteínas que los contienen, tales como la taurina, la treonina, la cisteína, el triptófano, la metionina. Los lípidos pertenecen preferiblemente al grupo de los aceites que contienen ácidos grasos mono y poliinsaturados tales como los ácidos oleicos, linoleico, alfa-linolénico, gamma-linolénico, estearidónico, los ácidos grasos omega-3 de cadena larga de pescado tales como el EPA y el DHA, los ácidos grasos conjugados resultantes de vegetales o de animales tales como los CLA (Conjugated Linoleic Acid).

[0123] El procedimiento de tratamiento cosmético se puede emplear particularmente administrando las composiciones cosméticas y/o dermatológicas o asociaciones tales como se han definido anteriormente, según la técnica de uso habitual de estas composiciones. Por ejemplo: aplicaciones de cremas, de geles, de sueros, de lociones, de leches desmaquillantes o de composiciones para después de la exposición al sol sobre la piel o sobre el cabello seco, aplicación de una loción capilar sobre el cabello mojado o de champús en lo que se refiere a la aplicación tópica.

[0124] El procedimiento cosmético puede emplearse mediante administración tópica, diaria por ejemplo, del lisado considerado según la invención.

[0125] El procedimiento puede comportar una única administración. Según otra forma de realización, la administración se repite por ejemplo de 2 a 3 veces al día cotidianamente durante un día o más y habitualmente a lo largo de un periodo prolongado de al menos 4 semanas, incluso de 4 a 15 semanas, de ser necesario con uno o varios períodos de interrupción.

[0126] La utilización conforme a la invención puede ser tal que los lisados o composiciones definidas anteriormente se aplican en el caso de una formulación destinada a un uso tópico.

[0127] En la descripción y en los ejemplos siguientes, salvo indicación contraria, los porcentajes son porcentajes en peso y rangos de valores redactados con la forma «entre ... y ...» incluyen los límites inferior y superior precisados. Los constituyentes se mezclan, antes de su acondicionamiento, en el orden y en condiciones fácilmente determinadas por el experto en la técnica.

[0128] Los ejemplos a continuación se presentan a título ilustrativo y no limitativo del dominio de la invención.

Ejemplo 1:

[0129]

Loción facial para pieles sensibles

Lisado de *Bifidobacterium longum**	5,00**
Gluconato de magnesio	3,00
Lactato de calcio	2,00
Antioxidante	0,05
Isopropanol	40,0
Conservante	0,30
Agua	c.s.p. 100%

* Repair Complex CLR® comercializado por K.Richter GmbH y correspondiente a una formulación al 5 % en peso de activos
** cantidad expresada en producto total

Ejemplo 2:

[0130]

Gel para el cuidado del rostro para pieles sensibles

Nitrato de estroncio	4,00
Lisado de *Bifidobacterium longum* *	5,00**
Hidroxipropilcelulosa (Klucel H® vendido por la empresa HERCULES)	1,00
Vitamina E	2,50
Antioxidante	0,05
Isopropanol	40,00
Conservante	0,30
Agua	c.s.p. 100%

* Repair Complex CLR® comercializado por K.Richter GmbH y correspondiente a una formulación al 5 % en peso de activos

** cantidad expresada en producto total

Ejemplo 3:

[0131]

Crema para el cuidado de las pieles sensibles

Hidróxido de sodio	0,07
Disodio EDTA	0,05
Glicina	1
Lisado de *Bifidobacterium longum**	5,00**
Fenoxietanol	0,80
Benzoato sódico	0,30
Paraffinum liquidum	8
Butyrospermum parkii	20
Alcohol cetílico	0,50
Aceite de Canola	5
VP/copolímero de eicoseno	1
Carbomer®	0,25
Ciclopentasiloxano	5
Ciclopentasiloxano y dimeticonol	3
Glicerina	10
Pentilenglicol	1
Ácido esteárico	1,25
Polisorbato 61	1,50
Estearoil glutamato disódico	1
Triestearato de sacarosa	2,25
Tocoferol	0,30
Agua	qsp 100%

* Repair Complex CLR® comercializado por K.Richter GmbH y correspondiente a una formulación al 5 % en peso de activos
** cantidad expresada en producto total

Ejemplo 4

Evaluación de la eficacia de un lisado de Bifidobacterium longum frente a la reactividad de una piel sensible.

[0132] El producto testado es un lisado de *Bifidobacterium longum* en suspensión desintegrada (mediante ultrasonidos) en un medio acuoso débilmente ácido comercializado bajo el nombre Repair Complex CLR®. El activo es al 5 % en peso en este biolisado total comercializado.

[0133] El activo ha sido testado solo en un estudio aleatorizado doble ciego.

[0134] Sesenta y seis mujeres que presentan piel seca han sido divididas en dos grupos, placebo (n=33) (grupo A), Repair Complex CLR® (n=33) (grupo B). Los tratamientos han sido aplicados tópicamente durante 58 días, estando el activo formulado al 10 % de la formulación testada. Esta fórmula soporte es una emulsión aceite/agua desmineralizada Arlacel/myrj® que contiene 5 % de Parleam, 15 % de ciclopentasiloxano, 3% de glicerina y 2 % de vaselina. En la fórmula placebo, la ausencia de Repair Complex CLR® se compensa con agua.

[0135] Con el fin de seguir la evolución de la sensibilidad cutánea, un *stinging test* ha sido realizado en el momento de la incorporación y posteriormente de manera regular a lo largo largo del estudio.

[0136] La prueba utilizada es el *Lactic Acid Stinging test* o "test del cosquilleo", puesto a punto por Frosch y Kligman en 1977 (GREEN BG, BLUT J. Measuring the chemosensory irritability of human skin. J Toxicol - Cut & Ocular Toxicol; 14(1), 23- 48 (1995). Permite evaluar la reactividad cutánea.

[0137] Esta prueba determina la capacidad de los individuos en general de sentir cosquilleos tras la aplicación de una solución de ácido láctico al nivel de los surcos nasogenianos. Estas zonas son, en efecto, muy reactivas y su capa córnea muy permeable. Son ricas en folículos pilosos y en glándulas sudoríparas, lo que favorece la penetración de los productos. Finalmente, disponen de una red nerviosa sensorial periférica muy densa.

[0138] La prueba descrita anteriormente se basa en la acotación por el sujeto, en el transcurso del tiempo, del grado de las sensaciones de molestia inducidas por la aplicación tópica, sobre una zona de la cara, de un activo que estimula los nervios sensitivos cutáneos. La pertinencia de esta prueba ha sido demostrada puesto que, globalmente, los sujetos con piel sensible muestran una molestia más importante.

[0139] En esta prueba, el agente que estimula la reactividad cutánea se administra tópicamente mediante una sola dosis única e idéntica para todos los sujetos (10% de ácido láctico). La acotación de la molestia se hace sobre una escala de tipo 0 = sin sensación, 1 = sensación ligera, 2 = sensación moderada y 3 = sensación fuerte.

[0140] Los sujetos han sido evaluados el día 1; día 29; día 43, y día 57. En cada visita los sujetos han evaluado la sensación de cosquilleo a 30 segundos, 2 minutos, y 5 minutos tras aplicación de ácido láctico y de suero fisiológico, según una escala que va de 0 para cuando no hay cosquilleo a 4 para una sensación de cosquilleo grave. La puntuación global de reactividad se calcula haciendo la resta de la suma de los resultados del ácido láctico menos la suma de los resultados del suero fisiológico.

[0141] La tabla I siguiente representa por visita y por tratamiento los promedios e intervalos de confianza al 95% de la media para la puntuación de *stinging*.

TABLA I

Grupo	Visita	N	Media	Error estándar de la media
A	1	32	4,88	,361
	29	30	3,60	,409
	43	29	2,62	,448
	57	28	4,04	,453
B	1	31	5,29	,360
	29	30	3,40	,370
	43	30	2,40	,409
	57	30	2,27	,262

[0142] La disminución general de la puntuación de *stinging* observada en la tabla 1 sobresale de forma muy significativa en el transcurso del tiempo (factor visita, prueba de Fisher, $p<0.0001$). Además, existe una interacción entre los tratamientos y el día de visita (prueba de Fisher, $p=0.019$).

[0143] Al día 57, se nota un claro aumento de la puntuación de *stinging* en el grupo A, mientras que parece estabilizado en el grupo B. Eso se traduce en un aumento de la sensibilidad en el grupo placebo al día 57 mientras que ésta sigue siendo reducida en el grupo B activo hasta el día 57.

[0144] El producto testado induce una mejora significativa contra placebo de la sensibilidad cutánea tras dos meses de tratamiento.

[0145] La valoración del umbral de sensibilidad mediante el *stinging test* muestra que la fórmula al 10% de Repair Complex CLR® disminuye significativamente la sensibilidad cutánea de las voluntarias de piel sensible ($p=0,0024$) al día 57 contra placebo, tras aplicación tópica de una fórmula al 10%.

Ejemplo 5

[0146] Evaluación del efecto calmante de un lisado conforme a la presente invención

- células utilizadas

[0147] Primo cultivo de neuronas sensitivas preparadas según la técnica descrita por Hall y colaboradores (J Neurosci. 1997 17(8):2775-84)

- Medio de cultivo:

[0148]

DMEM-HAM F12 (Invitrogen 21331-020)
L-glutamina 2mM (Invitrogen 25030024)
Penicilina 50 UI/ml - estreptomicina 50 µg/ml (Invitrogen 15070063)
Suplemento N2 (17502-048)
Factor de crecimiento nervioso (NGF, Invitrogen 13290.010)
Neurotrofina 3 (NT-3, Tebu 450-03-b)

Productos testados

[0149]

	Dilución	Concentraciones finales testadas
Repar Complex CLR® lisado según la invención	en medio de cultivo	3%, 1% y 0.1%
Capsaicina (Sigma M2028) 10^{-2} M en etanol	en medio de cultivo	10-6 M

- cultivo de neuronas sensitivas

[0150] Las neuronas sensitivas han sido cultivadas en placa de 96 pocillos (30 000 células por pocillo) en medio definido en un horno a 37°C y 5 % CO_2 saturado de humedad. El medio definido favorece el desarrollo de las neuronas en detrimento de las células contaminantes (células de Schwann y fibroblastos). Tras 9 días de cultivo, las neuronas electrofisiológicamente maduras pueden liberar espontáneamente los neuropéptidos.

- tratamiento y dosificación del CGRP

[0151] Tras 10 días de cultivo, las neuronas han sido incubadas en presencia del compuesto «Repair Complex CLR®» en las concentraciones seleccionadas por el patrocinador.

[0152] Las neuronas han sido incubadas en presencia del producto testado durante 6 horas y 20 minutos en el medio de neuronas sensitivas. Cada condición experimental ha sido realizada por cuadruplicado.

[0153] Al terminar estas incubaciones, el medio ha sido reemplazado por medio DMEM que contiene el producto en prueba con o sin capsaicina a 10^{-6}M. Tras 25 minutos de incubación, los sobrenadantes han sido recogidos y el contenido en CGRP ha sido medido en los sobrenadantes de cultivo mediante una prueba ELISA (Rat CGRP enzime inmunoasssay Kit A05482).

Resultados

[0154] Los resultados se presentan en la tabla II a continuación.

TABLA II

Liberación de CGRP inducido por la capsaicina (10^{-6} M)-incubación 6 horas							
Condición de cultivo	cantidad.	**CGRP liberado (PG/ml)**					
		Valores	**Media**	**Variación**	**n**	**% muestra**	***p***
Medio muestra	-	113.7 80.7 77,3 92.3	91.0	16.4	4	100	-
Repair Complex CLR®	1 %	34.8 37.1 33.3 25.0	32.6	5.3	4	36	p < 0,01
	0.30 %	54. 6 27.3 37.9	37.5	12.2	4	41	p < 0,01

[0155] Se advierte que tras irritación de las neuronas mediante la capsaicina (10^{-6} M), el lisado testado al 1% y 0,3% ha provocado una disminución significativa de la liberación de CGRP (respectivamente 36% y 41% de la muestra, p<0.01).

[0156] Estos resultados demuestran las propiedades calmantes inhibiendo la actividad de las neuronas sensitivas tras una irritación.

Ejemplo 6

Evaluación de la actividad de un lisado según la invención sobre una reacción neurógena

[0157] Para este ensayo se ha utilizado un modelo de piel humana vivo estimulado mediante un neuromediador (la sustancia P «SP»).

[0158] Este neuromediador es, en efecto, uno de los agentes responsables de la respuesta inflamatoria. Además de sus efectos vasculares (edema, vasodilatación, expresión de ELAM-1 sobre la pared de las células endoteliales), SP induce igualmente reacciones bioquímicas con formación de nitritos en las células endoteliales y liberación de mediadores proinflamatorios (IL1a, IL6, TNF α).

[0159] La valoración ha sido realizada histológicamente mediante análisis cuantitativo del número de mastocitos desgranulados y de la modulación vascular y bioquímicamente mediante dosificación de TNFα.

[0160] 8 pieles humanas de donantes diferentes se han obtenido de mujeres (edad entre 30 y 55 años) tras cirugía plástica y mantenidas en vida ex vivo.

[0161] Los fragmentos de piel se depositan en insertos dispuestos en suspensión encima de pocillos de cultivo. Al medio (Medio Esencial Mínimo de Dulbecco, D-MEM) (antibióticos; SVF) se ha agregado en el fondo de los pocillos un paso que se efectúa mediante difusión lenta entre los dos compartimentos mediante una membrana porosa (0,45 mm). Son necesarias 5 horas de renivelación antes de iniciar el protocolo.

[0162] Al término de las 5 horas de renivelación, se realiza el modelo experimental de inflamación neurógena añadiendo 10 µM de sustancia P (SP) en el medio de cultivo. El lisado Repair Complex® se aplica simultáneamente en tópico en la concentración de 10% (volumen aplicado: 40 µl/cm2). Los fragmentos de piel se mantienen entonces en cultivo de órganos durante 24 horas en un horno en atmósfera húmeda, a 37 °C y en presencia de 5 % de CO_2. El producto se reaplica el día 1.

[0163] Un estudio comparativo se ha realizado entre las 3 condiciones siguientes:

- piel muestra (condición básica: piel no estimulada, no tratada)
- piel estimulada por la sustancia P 10 µM
- piel estimulada por SP y tratada mediante el lisado al 10%

[0164] Los protocolos de análisis considerados son los siguientes:

A) Evaluación histológica del edema y de las modificaciones del diámetro de los capilares

[0165] Los fragmentos de pieles han sido fijados en el líquido de Bouin e incluidos en parafina. Tras coloración mediante hematoxilina-eosina, se evalúan 2 criterios al nivel de la dermis: el calibre de los capilares y el edema.

B) Evaluación del calibre de los capilares

[0166] Tras coloración mediante hematoxilina-eosina, la dilatación vascular se ha evaluado mediante un recuento del número de vasos dilatados sobre el conjunto de la sección histológica (16 campos a la ampliación 40). Este número se remite al número total de vasos con el fin de calcular el porcentaje de vasos dilatados. Además, se ha realizado un análisis morfométrico de la superficie ocupada por la luz de los vasos con el fin de determinar la superficie media (μm^2) ocupada por los vasos.

C) Evaluación histológica del edema

[0167] La valoración del edema se realiza con ayuda de resultados semicuantitativos:
- sin edema: 0 (puntuación 0)
- edema muy ligero: + (puntuación 1)
- edema moderado: ++ (puntuación 2)
- edema elevado: +++ (puntuación 3)
- edema muy elevado: ++++ (puntuación 4)

D) Dosificación de citocina proinflamatoria

[0168] Se ha estudiado la modulación de la secreción de citocinas tales como el TNF.

[0169] La dosificación de esta citocina se realiza mediante una técnica de prueba inmunológica con lectura espectrofotométrica de la concentración (pg/ml) (kits de dosificación Chemicon Internacional, INC). Para los fragmentos de piel que tienen la misma superficie (verificación del peso de cada fragmento), la dosificación ha sido realizada a partir de los sobrenadantes de cultivo.

E) Análisis estadísticos

[0170] Un promedio ha sido realizado a partir de los resultados obtenidos en las 8 pieles. El análisis estadístico se efectúa mediante la prueba de Student sobre la separación reducida o prueba de las muestras emparejadas, con un riesgo de 5%.

Resultados

A) Evaluación de la modulación vascular

- evaluación del % global de capilares dilatados

[0171] La Tabla III a continuación da cuenta de estos resultados.

Tabla III

	%
Piel muestra	69 ± 18,9
Piel + SP	77,7 ± 17,8 p = 0,053
Piel + SP + lisado	69,06 ± 21,1 p = 0,054

[0172] Se debe señalar que la aplicación de SP induce una vasodilatación con respecto a la piel muestra: 77,7 contra 69% (resultado cercano a la significatividad: p = 0,053).

[0173] La aplicación del lisado induce una disminución de este % de vasos dilatados: 69,06% respecto al modelo de estímulo mediante SP.

- Medida de la superficie media de los capilares

[0174] Los resultados con relación a la medida de la superficie media de los capilares se exponen en la Tabla IV a continuación.

Tabla IV

	µm2
Piel muestra	107,66 ± 71,63
Piel + SP	144,4 ± 71,2
	* p = 0,02
Piel + SP + lisado	97,4 ± 60,7
	# p = 0,0003
*: diferencia estadísticamente significativa con respecto a la piel muestra (prueba emparejada de Student, p < 0,05) #: diferencia estadísticamente significativa con respecto a la condición SP (prueba emparejada de Student, p < 0,05)	

[0175] Se debe señalar que la aplicación de la SP induce una vasodilatación estadísticamente significativa con respecto a la piel muestra: 144,4 µm2 versus 107,66 µm2 (p = 0,02). La aplicación del lisado permite disminuir muy significativamente la dilatación vascular: 97,4 µm2 con respecto al modelo de inflamación neurógena (p = 0,0003).

B) Evaluación del edema dérmico

[0176] Los resultados con relación al análisis del edema dérmico se exponen en la Tabla V.

Tabla V

	puntuación
Piel muestra	1,1 ± 0,64
Piel + SP	1,8 ± 0,7
	* p = 0,02
Piel + SP + lisado	1,17 ± 0,7
	# p = 0,009
*: diferencia estadísticamente significativa con respecto a la piel muestra (prueba emparejada de Student, p < 0,05)	

#: diferencia estadísticamente significativa con respecto a la condición SP (prueba emparejada de Student, p < 0,05)

[0177] La aplicación de la SP induce un edema estadísticamente significativo con respecto a la piel muestra: puntuación de 1,8 contra 1,1 (p = 0,02). La aplicación del lisado permite disminuir muy significativamente el edema dérmico: la puntuación observada es de 1,17 respecto al modelo de estímulo por SP (p = 0,009).

C) Dosificación de TNF

[0178] Los resultados de dosificación de TNF se exponen en la Tabla VI.

Tabla VI

	PG/ml
Piel muestra	32,3 ± 23,8
Piel + SP	49,2 ± 24,9
	* p = 0,00001
Piel + SP + lisado	28,8 ± 12,3
	# p = 0,07
*: diferencia estadísticamente significativa con respecto a la piel muestra (prueba emparejada de Student, p < 0,05) #: diferencia estadísticamente significativa con respecto a la condición SP (prueba emparejada de Student, p < 0,05)	

[0179] La aplicación de SP induce un aumento estadísticamente significativo de los índices de TNF con respecto a la piel muestra: 49,2 pg/ml contra 32,3 pg/ml (p = 0,00001). La aplicación del lisado permite disminuir significativamente la excreción de esta citocina proinflamatoria: 28,8 PG/ml (p = 0,007 respecto al modelo de estímulo mediante SP).

D) Conclusión

[0180] El conjunto de estos resultados demuestra un efecto calmante del lisado con disminución importante y estadísticamente significativa de la vasodilatación, y del edema. La disminución significativa de la liberación de TNF se ha de considerar junto con estos resultados histológicos.

REIVINDICACIONES

1. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para su utilización para prevenir y/o tratar un trastorno cutáneo de una piel sensible, estando dicho lisado formado por todos los componentes biológicos intracelulares y los componentes de las paredes y membranas celulares.

2. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para su utilización según la reivindicación precedente, en la que dicho lisado de microorganismo se destina a prevenir y/o tratar las manifestaciones de sensaciones disestésicas en pieles sensibles.

3. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicho lisado de microorganismo se destina a inhibir la liberación de neuromediadores cutáneos.

4. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el microorganismo del género *Bifidobacterium* se selecciona de entre *Bifidobacterium longum Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium animalis, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium adolescentis* o *Bifidobacterium pseudocatenulatum* y sus mezclas.

5. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el microorganismo del género *Bifidobacteritim* es el *Bifidobacteritim longum*.

6. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho lisado comprende de 0,1 a 50 % en peso, en particular de 1 a 20 % en peso de materia(s) activa(s) derivada(s) de los microorganismos del género *Bifidobacterium*.

7. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para su aplicación según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicho lisado se administra por vía tópica.

8. Lisado de al menos un microorganismo del género *Bifidobacterium* en una cantidad eficaz, para la utilización según cualquiera de los revendicationes1 a 6, en la que dicho lisado se administra por vía oral.

9. Composición cosmética y/o dermatológica, útil para prevenir y/o tratar un trastorno cutáneo de una piel sensible, que comprende en un medio fisiológicamente aceptable al menos una cantidad eficaz de al menos un lisado de por lo menos un microorganismo del género *Bifidobacterium*, estando dicho lisado formado por todos los componentes biológicos intracelulares y los componentes de las paredes y membranas celulares, en asociación con al menos un compuesto que puede provocar una irritación cutánea y que comprende además un microorganismo probiótico anexo y/o un lisado de por lo menos un microorganismo probiótico anexo.

10. Composición según la reivindicación precedente, caracterizada por el hecho de que dicho microorganismo anexo probiótico se selecciona de entre los ascomicetos tales como *Saccharomyces, Yarrowia, Kluyveromyces, Torulaspora, Schizosaccharomyces pombe, Debaromyces, Candida, Pichia, Aspergillus* y *Penicillium*, de las bacterias del género *Bifidobacterium, Bacteroides, Fusobacterium, Melissococcus, Propionibacterium, Enterococcus, Lactococcus, Staphylococcus, Peptostrepococcus, Bacillus, Pediococcus, Micrococcus, Leuconostoc, Weissella, Aerococcus, Oenococcus, Lactobacillus*, y sus mezclas.

11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, **caracterizada por el hecho de que** el microorganismo anexo proviene del grupo de las bacterias lácticas.

12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, **caracterizada por el hecho de que** el microorganismo anexo probiótico y/o una de sus fracciones está presente en una proporción de 0,0001 a 30%, en particular de 0,001 a 15 % y más en particular de 0,1 a 10 % en peso de dicha composición.

13. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, **caracterizada por el hecho de que** se presenta en forma de soluciones acuosas, hidroalcohólicas u oleosas, de dispersiones del tipo de las soluciones o dispersiones del tipo loción o suero, de emulsiones de consistencia líquida o semilíquida del tipo leche, obtenidas mediante dispersión de una fase grasa en una fase acuosa (aceite/agua) o inversamente (agua/aceite), o de suspensiones o emulsiones de consistencia blanda, semisólida o sólida del tipo crema, de gel acuoso o anhidro, o incluso de microemulsiones, de microcápsulas, de micropartículas, o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico.