

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
—  
**INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**  
—  
COURBEVOIE  
—

①1 N° de publication : **3 133 312**

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **22 02006**

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : **A 61 K 8/99** (2022.01), A 61 K 35/74, A 61 Q 19/00,  
A 61 Q 19/08, A 61 P 17/00

⑫

## BREVET D'INVENTION

**B1**

⑤4 Utilisation cosmétique ou dermatologique de *Sphingomonas glacialis* et/ou d'une composition la comprenant.

②2 Date de dépôt : 08.03.22.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public  
de la demande : 15.09.23 Bulletin 23/37.

④5 Date de la mise à disposition du public du  
brevet d'invention : 19.07.24 Bulletin 24/29.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche :

*Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *BASF BEAUTY CARE SOLUTIONS  
FRANCE SAS Société par actions simplifiée à associé  
unique* — FR.

⑦2 Inventeur(s) : BONNET Isabelle, D'ERCEVILLE  
DUMOND Charlotte et MAHLER Eva.

⑦3 Titulaire(s) : *BASF BEAUTY CARE SOLUTIONS  
FRANCE SAS Société par actions simplifiée à associé  
unique.*

⑦4 Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE.

**FR 3 133 312 - B1**



## Description

### Titre de l'invention : Utilisation cosmétique ou dermatologique de *Sphingomonas glacialis* et/ou d'une composition la comprenant

#### Domaine technique

[0001] La présente invention concerne la nouvelle utilisation cosmétique de *Sphingomonas glacialis* et/ou d'une composition la comprenant pour prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, notamment pour prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.

#### Technique antérieure

[0002] Le collagène est une protéine constitutive majeure de la matrice extra-cellulaire (MEC) présent en grande quantité dans les tissus vertébrés. Il fait partie d'une superfamille de 29 membres distincts, dont les collagènes fibrillaires. Le collagène fibrillaire est formé à partir des fibres de procollagène, ensuite assemblées en réseau, puis stabilisées par réticulation. C'est le collagène qui confère aux tissus leur résistance mécanique, et par voie de conséquence, participe au maintien de leur fermeté. Le collagène de type I en est l'exemple le plus connu. Il est retrouvé dans de nombreux tissus humains tels que tendons, ligaments, cornée et peau, localisé plus précisément au niveau du derme. Le collagène de type I est le collagène majoritaire de la peau. Le collagène de type V est aussi un collagène fibrillaire, présent en plus faible quantité. On retrouve le collagène de type V dans les mêmes tissus que le collagène de type I, et il est connu pour aider à l'assemblage des fibres hétérogènes composées de ces 2 types de collagène. Ils assurent donc le maintien des structures et confèrent aux tissus leur résistance mécanique. Ainsi au niveau du derme, il contribue à la fermeté de ces tissus, donc à la fermeté de la peau.

[0003] Au cours du vieillissement intrinsèque des tissus, particulièrement du derme et de l'épiderme, l'expression du collagène diminue, induisant un relâchement de ces tissus, donc une perte de tonicité et de fermeté de la peau. D'autres facteurs intrinsèques peuvent également être responsables de désorganisation de fibres de collagène et d'une diminution de fermeté notamment les variations hormonales, et les variations de tensions au niveau de la peau et/ou des muqueuses (prise ou perte de poids rapides). Différents facteurs extrinsèques sont également responsables de perte de fermeté de la peau et/ou des muqueuses notamment les agents agressifs de l'environnement tels que les rayonnements UV, la pollution, le tabac.

- [0004] Les collagènes I et V constituent par conséquent des cibles privilégiées dans le domaine de la cosmétique et de la dermatologie, domaines en demande constante d'ingrédients actifs alternatifs pour lutter contre la perte de fermeté.
- [0005] De façon particulièrement surprenante, la Demanderesse a découvert que *Sphingomonas glacialis* possède la propriété de prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses, notamment de prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses.
- [0006] *Sphingomonas glacialis* selon l'invention présente en outre l'avantage d'être un ingrédient facilement formulable, et pouvant être facilement fabriqué à l'échelle industrielle. Il s'agit d'un ingrédient actif topiquement acceptable pour la peau, les muqueuses et les phanères, qui ne présente pas de risque d'allergie.
- [0007] La demande de brevet CA 3111069 décrit l'utilisation de vésicules dérivées de bactéries appartenant au genre *Sphingomonas* comme agents actifs dans une préparation cutanée, pour prévenir et/ou traiter certaines maladies.
- [0008] En outre, le brevet US 9868957 décrit l'utilisation d'une bactérie génétiquement transformée comme par exemple *Sphingomonas glacialis* pour exprimer un composé d'intérêt cosmétique laquelle est utilisée dans une composition cosmétique topique. Toutefois, il n'est pas décrit dans ce document l'utilisation de *S. glacialis* non modifiée comme ingrédient cosmétique et/ou dermatologique.

#### Problème technique

- [0009] Ainsi, à la connaissance de la Demanderesse, aucun document ne décrit l'utilisation cosmétique et/ou dermatologique par voie topique de *Sphingomonas glacialis* comme ingrédient actif pour le soin des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses.

### **Exposé de l'invention**

- [0010] La présente invention a pour premier objet l'utilisation cosmétique par voie topique de *Sphingomonas glacialis* comme ingrédient actif pour le soin cosmétique des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [0011] Elle a également pour objet un procédé de soin cosmétique des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines caractérisé en ce qu'il comprend l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et/ou d'annexe cutanée saine et/ou de muqueuse saine de *Sphingomonas glacialis*, ou d'une composition cosmétique la comprenant, notamment pour prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, notamment pour

prévenir et/ou diminuer le vieillissement cutané et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.

[0012] L'invention a encore pour objet *Sphingomonas glacialis* ou une composition dermatologique la comprenant, pour son utilisation par voie topique dans le traitement des peaux pathologiques et/ou des annexes cutanées pathologiques et/ou des muqueuses pathologiques.

[0013] Elle concerne enfin une composition cosmétique et/ou dermatologique destinée à une application par voie topique comprenant *Sphingomonas glacialis* et un excipient cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.

### **Description détaillée**

[0014] On entend par « utilisation cosmétique », une utilisation non thérapeutique, c'est-à-dire qui n'est pas destinée à un usage thérapeutique et est appliquée sur une partie du corps dite saine, en particulier sur une zone de la peau et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses, dites saines.

[0015] On entend par « peau », toute partie du corps et/ou du visage, incluant le cuir chevelu.

[0016] On entend par « muqueuse », la muqueuse oculaire et/ou nasale et/ou auriculaire et/ou uro-génitale et/ou vaginale et/ou buccale et/ou labiale et/ou gingivale et/ou anale.

[0017] On entend par « annexes cutanées » les productions tégumentaires issues de l'ectoderme qui se caractérisent par un taux élevé de kératinisation. Les annexes cutanées n'incluent ainsi pas la peau ni les muqueuses. Elles incluent en revanche les fibres kératiniques.

[0018] On entend par ailleurs au sens de la présente invention par « fibres kératiniques » les ongles, les cheveux, la barbe, les poils, les cils et les sourcils. De manière avantageuse, les fibres kératiniques selon l'invention sont les cheveux. Selon l'invention, la barbe inclue la moustache.

[0019] Au sens de la présente invention, on entend par « voie topique », l'application locale directe et/ou la vaporisation de *Sphingomonas glacialis* ou de la composition la comprenant selon l'invention sur la surface de la zone de peau et/ou d'annexe cutanée et/ou de muqueuse, à traiter.

[0020] Au sens de la présente invention, on entend par « *Sphingomonas glacialis* », la bactérie *Sphingomonas glacialis* sous forme partielle ou sous forme entière. Avantageusement, *Sphingomonas glacialis* n'est pas génétiquement modifiée.

[0021] On entend par « sous forme entière » sa forme native, une forme dans laquelle la paroi bactérienne est intacte, par opposition à une forme lysée. Lorsqu'elle est utilisée sous forme entière, *Sphingomonas glacialis* peut être viable et / ou inactivée.

- [0022] On entend par « viable », *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention capable de former des colonies en culture. La production de la souche de *Sphingomonas glacialis* sous forme entière viable pourra être effectuée selon toute méthode classiquement connue de l'homme du métier, comme par exemple la méthode décrite dans l'exemple 1-BI.
- [0023] On entend par « inactivée », *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention qui est morte et qui conserve son intégrité physique. L'inactivation de *Sphingomonas glacialis* pourra être effectuée selon toute méthode classiquement connue de l'homme du métier. Elle peut notamment être inactivée par irradiation ou par traitement thermique. On entend par « morte », *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention qui n'est définitivement plus capable, de former des colonies en culture.
- [0024] L'inactivation thermique peut être réalisée en incubant *Sphingomonas glacialis* pendant une période de temps donnée, avantageusement de 10 secondes à 90 minutes, préférentiellement de 15 minutes à une heure, et à une température avantageusement de 60°C à 150 °C. Préférentiellement, elle sera incubée pendant 30 minutes à 80°C.
- [0025] On entend par « sous forme partielle » une forme dans laquelle la membrane bactérienne a été altérée et qui est avantageusement morte. Préférentiellement *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention sous forme partielle peut être *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention sous forme de lysat, et/ou sous forme de l'une ou plusieurs de ses fractions, et/ou sous forme d'un ou plusieurs de ses métabolites.
- [0026] Préférentiellement, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention ne comprend pas les vésicules excrétées par ladite bactérie.
- [0027] Au sens de l'invention, on entend par "lysat", un produit obtenu à l'issue de la destruction ou dissolution de cellules biologiques par un phénomène dit de lyse cellulaire provoquant ainsi la libération des constituants biologiques intracellulaires naturellement contenus dans les cellules du microorganisme considéré et de fragments de composants de membrane cellulaire. Le lysat mis en œuvre est donc formé de milieu intracellulaire, de l'ensemble des constituants biologiques intracellulaires et des constituants des parois et membranes cellulaires de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention.
- [0028] Le lysat pourra être obtenu par toute méthode classiquement connue de l'homme du métier. Il pourra notamment être obtenu par un choc osmotique, un choc thermique, par ultrasons, par lyse enzymatique, par tyndallisation, ou encore sous contrainte mécanique de type centrifugation, ou par augmentation de la pression ou des combinaisons de ces différentes technologies.
- [0029] Au sens de la présente invention, on entend par « fractions », un fragment de *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention, correspondant à une partie non

totale du milieu intracellulaire, des constituants biologiques intracellulaires et des constituants des parois et membranes cellulaires obtenu par lyse de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention.

- [0030] Selon un mode particulier de l'invention, les fractions peuvent être le cytoplasme et préférentiellement le cytosol de la bactérie.
- [0031] Au sens de la présente invention, on entend par « métabolites » une ou plusieurs molécules organiques et / ou inorganiques issue du métabolisme de *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention.
- [0032] Selon un mode préférentiel de réalisation de l'invention, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention se trouve sous forme entière viable et/ou sous forme de lysat.
- [0033] Pour chacune de ses formes, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention peut être isolée ou associée à son milieu de fermentation et/ou de culture. Préférentiellement, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention ne comprend pas de milieu de fermentation et/ou de culture. Plus préférentiellement, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention ne comprend pas de vésicules issues de *Sphingomonas glacialis*. On entend par « isolée », non mélangée à un ou des composé(s) susceptible(s) de lui être associé(s) dans son milieu de fermentation et/ou de croissance.
- [0034] *Sphingomonas glacialis* selon l'invention peut être issue de toute espèce connue de *Sphingomonas glacialis*. Préférentiellement, la souche de *Sphingomonas glacialis* est l'espèce déposée suivant le traité de Budapest auprès de l'Institut Pasteur (25 rue du Docteur Roux, F-75724 Paris cedex 15) le 02/03/2022 sous la désignation CNCM I-5829 par BASF Beauty Care Solutions France S.A.S.
- [0035] On entend par « ingrédient actif », un composant qui possède des propriétés cosmétiques et/ou thérapeutiques sur les peaux et/ou les annexes cutanées et/ou les muqueuses, en particulier par application topique, plus particulièrement pour le soin des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses, avantageusement qui possède des propriétés cosmétiques qui permettent de prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses, notamment de prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses.
- [0036] Avantageusement, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention est utilisée pour prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, notamment pour prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [0037] On entend par « prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques », empêcher

l'apparition et/ou diminuer les irrégularités inesthétiques du relief et/ou de la texture de la peau, des muqueuses et/ou des annexes cutanées et/ou les irrégularités de la couleur de la peau, des muqueuses et/ou des annexes cutanées.

- [0038] Pour la peau, les manifestations inesthétiques peuvent être les rides, les ridules, les points noirs, les pores visibles, la perte d'éclat du teint, le teint terne, les cernes, les poches ou les taches pigmentaires. Pour les muqueuses, les manifestations inesthétiques peuvent être l'aspect terne, craquelé, flétri et/ou abimé ainsi que les squames. Pour les annexes cutanées, les manifestations inesthétiques peuvent être l'aspect terne, cassant, friable, abimé et/ou la difficulté à les mettre en forme, notamment pour les cheveux, à les coiffer, et/ou les pointes fourchues.
- [0039] On entend par « prévenir et/ou diminuer les manifestations inconfortables et/ou désagréables », empêcher l'apparition et/ou diminuer les sensations subjectives telles que rougeurs, sensation de chaleur ou d'échauffement, de tension, de fourmillements, picotements, tiraillements, des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses.
- [0040] On entend par « prévenir et/ou diminuer le vieillissement de la peau, des muqueuses et/ou des annexes cutanées », empêcher et/ou diminuer l'apparition des signes du vieillissement, en particulier l'augmentation des radicaux libres et des toxines, la baisse de fermeté, de l'élasticité et/ou de la densité. Le vieillissement de la peau, des muqueuses et/ou des annexes cutanées inclue le vieillissement chrono-induit et le vieillissement induit par les facteurs extrinsèques, notamment le vieillissement photo-induit. La prévention et/ou la diminution du vieillissement de la peau et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses peut se traduire par un maintien et/ou une augmentation de l'action antiradicalaire, de l'oxygénation cellulaire, de la fermeté, de la densité et/ou de l'élasticité.
- [0041] On entend par « maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques » empêcher la diminution et/ou augmenter les propriétés biomécaniques. Préférentiellement, il s'agit d'une augmentation d'au moins 5%, plus préférentiellement 10%, des propriétés suivantes :
- maintenir et/ou augmenter la fermeté,
  - maintenir et/ou augmenter la densité,
  - maintenir et/ou augmenter l'élasticité,
  - maintenir et/ou augmenter l'expression de collagène de type I et/ou V,
- mesurée sur une peau et/ou une annexe cutanée et/ou une muqueuse traitée par *Sphingomonas glacialis* selon l'invention, par rapport à une peau et/ou une annexe cutanée et/ou une muqueuse non traitée par *Sphingomonas glacialis* selon l'invention. D'un point de vue pharmacologique, lesdites propriétés permettent de traiter et/ou de prévenir et/ou de diminuer la survenance de pathologies telles que la couperose, les télangiectasies, l'élastose solaire et/ou la pathologie cutis laxa liées à la diminution de la

fermeté et/ou de la densité et/ou de l'élasticité de la peau préférentiellement de la peau pathologique.

- [0042] On entend par « propriétés biomécaniques », la fermeté et/ou la densité et/ou l'élasticité et/ou la résistance à la compression et/ou la résistance à l'étirement et/ou la flexibilité et/ou l'extensibilité et/ou la capacité à résister à la déformation de la peau et/ou des muqueuses. Préférentiellement, il s'agit de la fermeté et/ou de l'élasticité et/ou de la densité de la peau et/ou des muqueuses, en particulier du derme.
- [0043] On entend par « propriétés biomécaniques des annexes cutanées », la structure et/ou les propriétés visuelles et/ou les paramètres de croissance et/ou la qualité de surface, avantageusement le caractère lisse et/ou la souplesse et/ou la résistance et/ou l'élasticité et/ou la force et/ou la déformation et/ou la plasticité et/ou la réponse à l'étirement des annexes cutanées, préférentiellement des fibres kératiniques, encore préférentiellement des cheveux.
- [0044] Les propriétés biomécaniques de la peau et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses peuvent être étudiées par les techniques de mesure connues par l'homme du métier notamment par traction, par torsion, succion, indentation, ballistométrie, par scanner ultrason à haute résolution ou élastographie, préférentiellement par indentation, par scanner ultrason à haute résolution.
- [0045] On entend par « peaux saines », « annexes cutanées saines » et « muqueuses saines » ou « tissu sain », une zone de peau, d'annexe cutanée ou de muqueuse, sur laquelle est appliquée *Sphingomonas glacialis* ou la composition selon l'invention et qui est dite « non pathologique » par un dermatologue, c'est-à-dire ne présentant pas d'infection, de cicatrice, de maladie ou d'affection cutanée telle que candidose, impétigo, psoriasis, eczéma, acné ou dermatite, couperose, télangiectasies, élastose solaire et/ou la pathologie cutis laxa ou de plaies ou de blessures. Avantageusement, *Sphingomonas glacialis* ou la composition la comprenant selon l'invention n'est pas destinée aux peaux atopiques.
- [0046] Préférentiellement, l'utilisation de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention est pour maintenir et/ou augmenter la fermeté et/ou la densité et/ou l'élasticité des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [0047] Plus préférentiellement, la fermeté et/ou la densité et/ou l'élasticité se définissent comme les propriétés limitant et/ou réduisant le relâchement, l'affaissement et/ou la manque de tonicité des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, en particulier au niveau des joues et/ou de la zone angulaire du visage (communément appelé arrondie du visage ou V du visage).
- [0048] Au sens de la présente invention, on entend par « maintenir et/ou augmenter la fermeté », empêcher la diminution et/ou augmenter à des fins esthétiques la fermeté des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses notamment de celles qui

ont perdu de la fermeté notamment sous l'effet de facteurs intrinsèques et/ou extrinsèques.

- [0049] Les facteurs intrinsèques peuvent être le vieillissement de la peau et/ou des muqueuses et/ou des annexes cutanées, c'est-à-dire le vieillissement chrono-induit, que l'on retrouve par exemple chez les peaux dites matures c'est-à-dire les peaux de personnes de plus de 40 ans. Il peut s'agir du stress cellulaire, des variations physiologiques non pathologiques telles qu'un changement de régime alimentaire, des variations hormonales, en particulier durant la puberté, la grossesse, la préménopause, la ménopause et/ou l'andropause.
- [0050] Les facteurs extrinsèques peuvent être les agents agressifs de l'environnement comme par exemple la pollution, les radiations UV, les fumées, le tabac, les toxines, ou les agressions climatiques et/ou mécaniques.
- [0051] Préférentiellement, il s'agit d'une augmentation de la fermeté au niveau des tissus, en particulier du derme, d'au moins 1%, préférentiellement d'au moins 3%, encore avantageusement d'au moins 5%, en présence *Sphingomonas glacialis* selon l'invention par rapport à la fermeté d'un tissu mesurée en l'absence de *Sphingomonas glacialis*. Dans un mode de réalisation avantageux de l'invention, il s'agit d'une augmentation mesurée in vivo, préférentiellement sur la peau du visage humain.
- [0052] Selon un mode alternatif, la fermeté est mesurée par le taux d'expression des collagènes de type I et/ou V.
- [0053] Au sens de la présente invention, on entend par protéine de « collagène de type I et/ou V », les protéines de collagènes de type I et/ou V présentes dans la peau, la cornée, les tendons, les ligaments, les os, encore préférentiellement dans la peau.
- [0054] Selon un mode préférentiel, *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention permet de maintenir et/ou augmenter l'expression de collagène de type I et/ou V.
- [0055] On entend par « maintenir et/ou augmenter l'expression du collagène de type I et/ou V » empêcher une diminution et/ou augmenter le niveau d'expression génique, c'est-à-dire l'expression des ARNm (ARN messagers), et/ou de la synthèse protéique des collagènes des tissus traités par *Sphingomonas glacialis* selon l'invention, par rapport à l'expression génique et/ou la synthèse protéique mesurée en l'absence de *Sphingomonas glacialis*.
- [0056] En particulier, il s'agit d'une augmentation du niveau d'expression génique et/ou de la synthèse protéique des collagènes de type I et V dans des tissus, d'au moins 10%, préférentiellement d'au moins 20 %, par rapport au niveau d'expression génique et/ou protéique des collagènes de type I et V dans des tissus mesuré en l'absence de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention.
- [0057] Selon un mode avantageux de l'invention, il s'agit d'une augmentation par rapport au niveau d'expression génique et/ou protéique du collagène mesuré dans des cellules de

fibroblastes dermiques cultivées in vitro en l'absence de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention.

- [0058] Dans un mode préférentiel de l'invention, il s'agit d'une augmentation du niveau d'expression protéique du collagène de type I d'au moins 20%, avantageusement d'au moins 30 %, préférentiellement d'au moins 60 % et encore plus préférentiellement d'au moins 90 %, par rapport au niveau d'expression protéique du collagène de type I mesuré dans des cellules de fibroblastes dermiques cultivées in vitro en l'absence de *Sphingomonas glacialis*.
- [0059] Dans un mode préférentiel de l'invention, il s'agit d'une augmentation du niveau d'expression protéique du collagène de type V d'au moins 10 %, préférentiellement d'au moins 20 %, par rapport au niveau d'expression protéique du collagène de type V mesuré dans des cellules de fibroblastes dermiques cultivées in vitro en l'absence de *Sphingomonas glacialis*.
- [0060] Avantageusement, la mesure de l'augmentation de l'expression protéique est effectuée par mesure in vitro, préférentiellement après dosage immunoenzymatique ou ELISA par exemple selon la méthode telle que présentée dans les exemples 2 et 3.
- [0061] Au sens de la présente invention, on entend par « dosage immunoenzymatique », la technique consistant à fixer un anticorps spécifique d'une protéine donnée de collagène, préférentiellement la protéine de collagène de type I et/ou de type V, sur ladite protéine, en vue d'une révélation par mesure de fluorescence. Avantageusement, la révélation se fait par fluorescence.
- [0062] Selon un autre mode avantageux, la mesure de l'augmentation de l'expression génique est effectuée par mesure in vitro, préférentiellement après RT-qPCR.
- [0063] Selon un mode alternatif, la fermeté est mesurée par la quantité de radicaux libres et/ou le taux d'oxygénation cellulaire.
- [0064] Au sens de la présente invention, on entend d'un point de vue cosmétique par « maintenir et/ou augmenter l'élasticité », empêcher la diminution et/ou entraîner l'augmentation à des fins esthétiques, de l'élasticité des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses qui ont perdu de l'élasticité notamment sous l'effet de facteurs intrinsèques, tels que le vieillissement de la peau et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses, c'est-à-dire le vieillissement chrono-induit, que l'on retrouve par exemple chez les peaux dites matures c'est-à-dire les peaux de personnes de plus de 40 ans, le stress cellulaire, les variations physiologiques non pathologiques telles que un changement de régime alimentaire, les variations hormonales, en particulier durant la puberté, la grossesse, la préménopause, la ménopause et/ou l'andropause. Cette diminution d'élasticité peut également apparaître sous l'effet de facteurs extrinsèques, tels que les agents agressifs de l'environnement, comme par exemple la pollution, les fumées, les radiations UV, le tabac, les toxines, ou les agressions climatiques et/ou mé-

caniques.

- [0065] Préférentiellement, il s'agit d'une augmentation de l'élasticité au niveau des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses, mesurée in vivo, d'au moins 2%, avantageusement d'au moins 4%, encore avantageusement d'au moins 6%, en présence de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention par rapport à l'élasticité des peaux et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses mesurée en l'absence de *Sphingomonas glacialis*. Dans un mode de réalisation préférentiel de l'invention, il s'agit d'une augmentation mesurée in vivo, avantageusement sur la peau du visage humain.
- [0066] La mesure in vivo de la fermeté et/ou de l'élasticité pourra être effectuée selon les méthodes classiques connues de l'homme de l'art, notamment par mesure à l'aide d'un cutomètre, d'un Tonoderm™ ou encore d'un DynaSKIN® associé à un dermaTOP.
- [0067] Selon un mode de réalisation, *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention et/ou une composition la comprenant est destinée à être appliquée sur tout ou partie du corps et/ou du visage et/ou du cuir chevelu, préférentiellement les jambes, les cuisses, les bras, le ventre, le décolleté, le cou, les aisselles, les lèvres, encore préférentiellement tout ou partie du visage, et préférentiellement les joues, le front, le menton, les lèvres, le contour des yeux, en particulier au niveau des joues et/ou de la zone angulaire du visage (communément appelé arrondie du visage ou V du visage), plus préférentiellement sur une zone de peau présentant une perte des propriétés biomécaniques, notamment un relâchement et/ou une zone de peau affaissée et/ou une zone de peau manquant de tonicité.
- [0068] Selon l'invention, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention peut être utilisée seule, en tant qu'ingrédient actif, et/ou peut se trouver sous la forme d'une composition cosmétique la comprenant, en particulier comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.
- [0069] On entend par « composition cosmétique », une composition non pharmaceutique, c'est-à-dire qui n'est pas destinée à un usage thérapeutique et qui est destinées à une partie du corps et/ou du visage dite saine, en particulier une zone de la peau et/ou d'annexes cutanées et/ou de muqueuse, dite saine.
- [0070] Avantageusement la composition comprenant *Sphingomonas glacialis* est telle que décrite ci-dessous par la suite et en particulier comprend *Sphingomonas glacialis* à une concentration de  $1 \times 10^{-4}\%$  à 10% (p/p) en poids, préférentiellement de  $1 \times 10^{-3}\%$  à 10% (p/p) en poids, avantageusement de  $1 \times 10^{-3}\%$  à 3% (p/p) en poids, plus préférentiellement de 0,01% à 3% (p/p) en poids, et encore plus préférentiellement de 0,1 % à 1% (p/p) en poids, par rapport au poids total de la composition.
- [0071] Selon un mode préférentiel, *Sphingomonas glacialis* est utilisée seule, sous sa forme d'ingrédient actif. *Sphingomonas glacialis* selon l'invention peut être sous une forme sèche, c'est-à-dire sous forme de poudre.

- [0072] Selon un autre mode préférentiel, *Sphingomonas glacialis* se trouve sous sa forme d'ingrédient actif sous une forme sèche, c'est-à-dire sous forme de poudre, avantageusement en mélange avec de la maltodextrine, préférentiellement en une teneur de 1% à 99% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis*, plus préférentiellement en une teneur de 1% à 50% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis*, avantageusement de 1% à 30% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis* et encore plus avantageusement de 5% à 20% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis* par rapport au poids total de la poudre, qui comprend à la fois *Sphingomonas glacialis* et la maltodextrine.
- [0073] Selon un mode alternatif préférentiel, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention peut être soluble et/ou sous une forme liquide par exemple diluée dans un solvant, préférentiellement en une teneur de 1% à 99% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis*, plus préférentiellement en une teneur de 1% à 50% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis*, avantageusement de 1% à 30% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis* et encore plus avantageusement de 5% à 20% (p/p) en poids de *Sphingomonas glacialis* par rapport au poids total du liquide, qui comprend à la fois *Sphingomonas glacialis* et le solvant. Préférentiellement, ce solvant contient moins de 20% (p/p) en poids d'eau, encore préférentiellement moins de 5% (p/p) en poids d'eau, encore préférentiellement le solvant ne contient pas d'eau.
- [0074] Alternativement, les formes entières inactivées et/ou les lysats, et/ou les fractions, et/ou les métabolites selon l'invention, peuvent se trouver sous forme diluée dans un solvant, notamment polaire, tel que l'eau, un alcool, un polyol, un glycol tel que le glycérol et/ou le pentylène glycol et/ou l'hexylène glycol et/ou le caprylyl glycol, ou un de leurs mélanges, préférentiellement un mélange hydroglycolique ou hydroalcoolique, encore préférentiellement comprenant un glycol choisi parmi l'hexylène glycol, le caprylyl glycol et leurs mélanges.
- [0075] La présente invention a également pour objet un procédé de soin cosmétique des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines caractérisé en ce qu'il comprend l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et/ou d'annexe cutanée et/ou de muqueuse saine de *Sphingomonas glacialis*, en particulier tel que décrit ci-dessus, ou d'une composition cosmétique la comprenant, notamment pour prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, notamment pour prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [0076] De manière avantageuse, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention, préférentiellement sous la forme d'une composition cosmétique selon l'invention, est utilisée en application topique régulière et préférentiellement au moins une fois par jour, avan-

tageusement deux fois par jour, pendant au moins 7 jours, préférentiellement pendant au moins 14 jours, plus préférentiellement pendant au moins 21 jours et avantageusement pendant moins de 28 jours.

[0077] Le procédé de soin cosmétique selon l'invention pour prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, notamment pour prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, comprend avantageusement les étapes suivantes

- L'identification sur l'individu d'une zone de peau saine et/ou d'annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, pour laquelle on souhaite prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables, notamment pour laquelle on souhaite prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques,

- L'application topique sur cette zone de peau saine et/ou d'annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention, sous forme d'ingrédient actif, seule ou dans de la maltodextrine ou diluée dans un solvant, ou d'une composition cosmétique comprenant *Sphingomonas glacialis*.

[0078] Dans un autre mode de réalisation, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention est incorporée dans une composition cosmétique.

[0079] Selon un mode de réalisation, le procédé de soin cosmétique selon l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et/ou de muqueuse saine de *Sphingomonas glacialis* ou d'une composition cosmétique la comprenant, pour maintenir et/ou augmenter la fermeté et/ou la densité et/ou l'élasticité des peaux saines et/ou des muqueuses saines.

[0080] Selon un mode de réalisation, le procédé de soin cosmétique selon l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et/ou de muqueuse saine de *Sphingomonas glacialis* ou d'une composition cosmétique la comprenant pour maintenir et/ou augmenter l'expression de collagène de type I et/ou V.

[0081] De façon avantageuse, *Sphingomonas glacialis* ou la composition la comprenant selon l'invention est destiné(e) à être appliquée par voie topique, sur tout ou partie du corps et/ou du visage et/ou du cuir chevelu, préférentiellement les jambes, les cuisses, les bras, le ventre, le décolleté, le cou, les aisselles, les lèvres, encore préférentiellement tout ou partie du visage, et préférentiellement les joues, le front, le menton, les lèvres, le contour des yeux, en particulier au niveau des joues et/ou de la zone angulaire du visage (communément appelé arrondie du visage ou V du visage).

[0082] De façon avantageuse, *Sphingomonas glacialis* et/ou la composition la comprenant

est destinée à être appliquée sur une zone de tissu sain présentant un relâchement et/ou un affaissement et/ou une zone de tissu sain manquant de tonicité.

- [0083] Ainsi, avantageusement la composition cosmétique est destinée à une application par voie topique sur la peau saine et/ou les annexes cutanées saines et/ou les muqueuses saines.
- [0084] De façon avantageuse le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que l'application est effectuée sur tout ou partie du corps et/ou du visage et/ou du cuir chevelu, préférentiellement les jambes, les cuisses, les bras, le ventre, le décolleté, le cou, les aisselles, les lèvres, encore préférentiellement tout ou partie du visage, et préférentiellement les joues, le front, le menton, les lèvres, le contour des yeux, en particulier au niveau des joues et/ou de la zone angulaire du visage (communément appelé arrondie du visage ou V du visage), plus particulièrement sur une zone de tissu sain présentant un relâchement et/ou un affaissement et/ou une zone de tissu sain manquant de tonicité.
- [0085] De manière préférentielle, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention est particulièrement adaptée pour la formulation de composition dite neutre et douce pour le respect de la glande sébacée, notamment de la peau incluant le cuir chevelu et/ou des muqueuses.
- [0086] De manière alternative, *Sphingomonas glacialis* selon l'invention peut se présenter sous toutes les formes galéniques classiquement utilisées pour une application par voie topique.
- [0087] Selon un mode de réalisation, le procédé de soin cosmétique selon l'invention est dans lequel la composition cosmétique comprend *Sphingomonas glacialis*, à une concentration de  $1 \times 10^{-4}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, préférentiellement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, avantageusement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, plus préférentiellement entre  $0,01\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, et encore plus préférentiellement entre  $0,1\%$  et  $1\%$  (p/p) en poids, par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.
- [0088] On entend, au sens de la présente invention, par excipient « cosmétiquement acceptable », un composé et/ou solvant, non toxique, non irritant, n'induisant pas de réponse allergique, qui n'est pas instable chimiquement, pour les peaux saines et/ou les annexes cutanées saines et/ou les muqueuses saines.
- [0089] La présente invention a aussi pour objet *Sphingomonas glacialis*, ou d'une composition dermatologique la comprenant, pour son utilisation par voie topique, dans le traitement des peaux pathologiques et/ou des annexes cutanées pathologiques et/ou des muqueuses pathologiques, telles que la dermatoporose, le syndrome d'Ehlers-Danlos, l'ostéogénèse imparfaite, l'élastose solaire ou la pathologie cutis laxa.
- [0090] Selon un mode de réalisation, *Sphingomonas glacialis* pour son utilisation selon

l'invention est caractérisée en ce qu'il se trouve sous la forme d'une composition dermatologique comprenant au moins un excipient dermatologiquement acceptable.

- [0091] Selon un autre mode de réalisation, *Sphingomonas glacialis* est présente dans la composition dermatologique à une teneur comprise entre  $1 \times 10^{-4}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, préférentiellement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, avantageusement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, plus préférentiellement entre  $0,01\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, et encore plus préférentiellement entre  $0,1\%$  et  $1\%$  (p/p) en poids, par rapport au poids total de la composition.
- [0092] L'invention a enfin pour objet la composition topique cosmétique et/ou dermatologique comprenant *Sphingomonas glacialis* selon la présente invention et un excipient cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.
- [0093] Selon un autre mode de réalisation, *Sphingomonas glacialis* est présente dans la composition cosmétique à une teneur comprise entre  $1 \times 10^{-4}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, préférentiellement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, avantageusement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, plus préférentiellement entre  $0,01\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, et encore plus préférentiellement entre  $0,1\%$  et  $1\%$  (p/p) en poids, par rapport au poids total de la composition.
- [0094] Préférentiellement, la composition topique cosmétique selon l'invention comprend un ou plusieurs ingrédients actifs cosmétiques tels que des actifs hydratants, des actifs anti-âges, des actifs anti-radicalaires, des agents protecteurs du facteur de croissance des fibroblastes (FGF), des agents stimulant l'activité et/ou la prolifération des fibroblastes et/ou des eaux thermales.
- [0095] La composition cosmétique selon l'invention peut être choisie parmi une solution, aqueuse ou huileuse, une crème ou un gel aqueux ou un gel huileux, notamment un gel douche, un shampoing ; un lait ; une émulsion, une microémulsion ou une nanoémulsion, notamment huile-dans-eau ou eau-dans-huile ou multiple ou siliconée ; un masque ; un sérum ; une lotion ; un savon liquide ; un pain dermatologique ; une pommade ; un baume ; un beurre ; une mousse ; un patch ; un produit anhydre, de préférence liquide, pâteux ou solide, par exemple sous forme de poudres de maquillage, de bâtonnet ou de stick, notamment sous forme de rouge à lèvres.
- [0096] Il peut également s'agir d'un produit de maquillage ou d'un produit de démaquillage.
- [0097] Les compositions selon l'invention peuvent contenir tout solvant approprié et/ou tout véhicule approprié et/ou tout excipient approprié, éventuellement en combinaison avec d'autres composés d'intérêt.
- [0098] De ce fait, pour ces compositions, l'excipient contient par exemple au moins un composé choisi parmi le groupe comprenant les conservateurs, les émoullissants, les émulsifiants, les tensioactifs, les hydratants, les épaississants, les conditionneurs, les agents matifiants, les stabilisants, les antioxydants, les agents de texture, les agents de

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

[0099] De nombreux ingrédients cosmétiquement actifs sont connus par l'homme du métier pour améliorer la santé et/ou l'apparence physique de la peau (y compris le cuir chevelu) et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses. L'homme du métier sait formuler les compositions cosmétiques et/ou dermatologiques pour obtenir les meilleurs effets. D'autre part, ces composés peuvent avoir un effet de synergie lorsqu'ils sont combinés les uns aux autres. Ces combinaisons sont également couvertes par la présente invention. Le CTFA Cosmetic Ingredient Handbook, Second Edition (1992) décrit différents ingrédients cosmétiques et pharmaceutiques utilisés couramment dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique, qui sont en particulier adaptés à une utilisation topique. Des exemples de ces classes d'ingrédients comprennent, sans en être limités, les composés suivants: abrasifs, absorbants, composés à but esthétique tel que les parfums, les pigments, les colorants, les huiles essentielles,

les astringents, etc. (par exemple: l'huile de clou de girofle, menthol, camphre, l'huile d'eucalyptus, eugénol, menthyl lactate, distillat d'hamamélis), les agents anti-acné, les agents anti-floculants, les agents antimousse, les agents antimicrobiens (par exemple: iodopropyl butylcarbamate), les antioxydants, les liants, les additifs biologiques, les agents tampons, les agents gonflants, les agents chélatants, les additifs, les agents biocides, les dénaturants, les épaississants, et les vitamines, et les dérivés ou équivalents de ceux-ci, les matériaux formant des films, les polymères, les agents opacifiants, les ajusteurs de pH, les agents réducteurs, les agents dépigmentants ou éclaircissants (par exemple : hydroquinone, acide kojique, acide ascorbique, magnésium ascorbyl phosphate, ascorbyl glucosamine), les agents de conditionnement (par exemple : les humectants).

- [0100] La composition cosmétique pourra comprendre par ailleurs d'autres agents cosmétiques et/ou dermatologiques possédant les mêmes propriétés et induisant un effet synergique ou non avec *Sphingomonas glacialis* selon l'invention, ou des agents cosmétiques à effets complémentaires.
- [0101] Il peut s'agir par exemple d'ingrédients anti-rides, agents stimulant l'activité ou la prolifération des fibroblastes, agents stimulant les molécules de la matrice extracellulaire.
- [0102] Il peut s'agir par ailleurs d'ingrédients actifs anti-âge et/ou agents tenseurs pour un effet de synergie avec *Sphingomonas glacialis*. Avantagusement, il s'agit d'ingrédients actifs augmentant l'expression génique et/ou protéique du collagène ou d'ingrédients actifs empêchant la dégradation du collagène tels que le rétinol, la vitamine C, un extrait de *Davilla rugosa* commercialisé sous le nom de Collguard™ par BASF Beauty Care Solutions, un extrait de feuilles de marjolaine commercialisé sous le nom Dermagenist™ par BASF Beauty Care Solutions, un extrait de graine d'*Hibiscus abelmoschus* commercialisé sous le nom de Linefactor™, un peptide commercialisé sous le nom de Dermican™ par la demanderesse ou encore les produits commercialisés sous les noms de Matrixyl™, Matrixyl 3000™ et Regestril™ par la société Sederma ou Neuroguard par la société Codif, ou encore Eternaline™ par la société Silab.
- [0103] Les agents tenseurs utilisables dans l'invention peuvent être choisis parmi les polymères synthétiques, tels que les latex de polyuréthane ou les latex acryliques, les polymères d'origine naturelle, notamment les polyholosides sous forme d'amidon ou sous forme de carraghénanes, alginates, agars, gellanes, polymères cellulosiques et pectines; les protéines et hydrolysats de protéines végétales ; les silicates mixtes ; les microparticules de cire ; les particules colloïdales de charge inorganique choisies par exemple parmi la silice, les composites silice-alumine ; ainsi que leurs mélanges.
- [0104] Il peut enfin s'agir d'ingrédients cosmétiques comme par exemple des agents antimicro-

crobiens, agents anti-radicalaires, agents apaisants, calmants ou relaxants, agents agissant sur la microcirculation pour améliorer l'éclat du teint, en particulier du visage, agents cicatrisants ou agents amincissants. Avantageusement la composition cosmétique et/ou dermatologique de la présente invention contient également un ou plusieurs agents tenseurs et/ou un ou plusieurs agents antimicrobiens et/ou un ou plusieurs agents antiradicalaires et/ou un ou plusieurs agents apaisants et/ou un ou plusieurs agents amincissants et/ou un ou plusieurs agents actifs sur la microcirculation.

- [0105] Parmi les agents antimicrobiens associés à *Sphingomonas glacialis* dans un mode préférentiel de la présente invention, on peut citer le 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy diphényl éther (ou triclosan), le 3,4,4'-trichlorobanilide, le phénoxyéthanol, le phénoxypropanol, le phénoxyisopropanol, l'hexamidine iséthionate, le métronidazole et ses sels, le miconazole et ses sels, l'itraconazole, le terconazole, l'éconazole, le ketoconazole, le saperconazole, le fluconazole, le clotrimazole, le butoconazole, l'oxiconazole, le sulfaconazole, le sulconazole, la terbinafine, l'acide undécylénique et ses sels, le peroxyde de benzoyle, l'acide 3-hydroxy benzoïque, l'acide 4-hydroxy benzoïque, l'acide phytique, l'acide N-acétyl-L-cystéine, l'acide lipoïque, l'acide azélaïque et ses sels, l'acide arachidonique, le résorcinol, l'octoxyglycérine, l'octanoylglycine, le caprylyl glycol, l'acide 10-hydroxy-2-décanoïque, le farnesol, les phytosphingosines et leurs mélanges.
- [0106] Les agents anti-radicalaires peuvent être la vitamine C et ses dérivés dont le glucoside d'ascorbyle, les phénols et polyphénols, en particulier les tannins, l'acide ellagique et l'acide tannique; l'épigallocatechine et les extraits naturels en contenant, en particulier les extraits de thé vert; les anthocyanes; les acides phénols, les stilbènes; des actifs piègeurs de composés aromatiques mono- ou polycycliques, les tannins tels que l'acide ellagique et les dérivés indoles et / ou des actifs piègeurs de métaux lourds tels que l'EDTA, des actifs anti-radicalaires tels que la vitamine E et ses dérivés tels que l'acétate de tocophéryle ; les bioflavonoïdes; la coenzyme Q10 ou ubiquinone.
- [0107] Comme agents apaisants entrant dans la composition de l'invention, on peut utiliser les triterpènes pentacycliques, l'acide ursolique et ses sels, l'acide oléanolique et ses sels, l'acide bétulinique et ses sels, les sels de l'acide salicylique et en particulier le salicylate de zinc, le bisabolol, l'allantoïne, les huiles insaturées en oméga 3, la cortisone, l'hydrocortisone, l'indométhacine et la beta méthasone, les actifs anti-inflammatoires, et notamment ceux décrits dans la demande FR2847267, en particulier l'extrait de racine de *Pueraria lobata* commercialisé sous le nom Inhipase™ par la demanderesse, les extraits de *Theobroma cacao*.
- [0108] Les ingrédients actifs agissant sur la microcirculation, vasoprotecteurs ou vasodilatateurs, peuvent être choisis parmi les flavonoïdes, les ruscogénines, les nicotines,

les huiles essentielles.

[0109] Les actifs amincissants peuvent être notamment choisis parmi les agents inhibiteurs de la lipoprotéine lipase tels que ceux décrits dans le brevet US2003086949 (Coletica) et en particulier un extrait de liane du Pérou (*Uncaria tomentosa*); les actifs drainants, notamment l'hesperitine laurate (Flavagr<sup>TM</sup>), ou quercitine caprylate (Flavenger<sup>TM</sup>); les agents inhibiteurs de l'enzyme phosphodiesterase, les agents activateurs de l'adenylate cyclase, l'AMPc et/ou les actifs capable de piéger la spermine et/ou la spermidine. On peut citer un extrait de racine de *Coleus Forskohlii*, un extrait de *Cecropia obtusa*, d'*Uva lactuca*, la caféine, la forskoline, la théophylline, la théobromine et/ou leurs dérivés, un produit de kappa carraghénanes hydrolysé dénommé Slimexcess<sup>TM</sup> commercialisé par la demanderesse et/ou leurs mélanges.

[0110] Au sens de la présente invention, on entend par « composition dermatologique », une composition visant à traiter et/ou à prévenir les pathologies de la peau et/ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses notamment liés à une perte des propriétés biomécaniques de la peau ou des annexes cutanées et/ou des muqueuses. Plus particulièrement, pour maintenir et/ou augmenter à des fins thérapeutiques, la densité des tissus pathologiques qui ont perdus de leur élasticité sous l'effet de pathologies, et/ou la fermeté et/ou de l'élasticité des peaux pathologiques et/ou d'annexes cutanées pathologiques et/ou des muqueuses pathologiques qui ont respectivement perdus de leur fermeté sous l'effet de pathologies comme par exemple la couperose, les télangiectasies et/ou de leur élasticité sous l'effet de pathologies comme par exemple l'élastose solaire et/ou la pathologie cutis laxa.

[0111] L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description des exemples qui suivent.

[0112] Des exemples faisant référence à la description de l'invention sont présentés ci-après. Ces exemples sont donnés à titre d'illustration et ne sauraient limiter en aucun cas la portée de l'invention. Chacun des exemples a une portée générale.

[0113] Les exemples font partie intégrante de la présente invention et toute caractéristique apparaissant nouvelle par rapport à un état de la technique antérieure quelconque à partir de la description prise dans son ensemble, incluant les exemples, fait partie intégrante de l'invention.

[0114] D'autre part, dans les exemples, tous les pourcentages sont donnés en poids, sauf indication contraire, la température est exprimée en degré Celsius sauf indication contraire, et la pression est la pression atmosphérique, sauf indication contraire.

## **EXEMPLES**

[0115] **Exemple 1 : Préparation et production de forme entière viable de *Sphingomonas glacialis*.**

[0116] A. Souche

[0117] Les bactéries *Sphingomonas glacialis* (CNCM I-5829) ont été fournies sous forme lyophilisées, et placées dans le milieu de culture suivant indiqué dans le tableau 1 suivant:

[0118] [Tableaux1]

Ingrédient	CAS No.	par litre	Fournisseur
Ammonium sulfate	7783-20-2	2g	VWR
Extrait de levure	84604-16-0	0,5g	VWR
Vitamine B12	68-19-9	0,001 g	Sigma
Dextrose anhydre	50-99-7	0,5g	VWR
Amidon Soluble	9005-84-9	0,5g	VWR
Sodium Pyruvate	113-24-6	0,3g	VWR
Potassium Phosphate	7758-11-4	0,3g	VWR
Magnésium Sulfate anhydre	7487-88-9	0,05g	VWR
Glucose (origine végétale)	50-99-7	30g	VWR
Agar (pour plaques)	9002-18-0	14g	BD

[0119] Les ingrédients sont ajoutés dans l'ordre indiqué dans le tableau, en ajoutant le glucose en petites quantités pour permettre sa solubilisation. Après solubilisation complète, le pH est ajusté entre 6,1 et 6,3. Le milieu a été enfin stérilisé à l'aide de l'unité de filtre Nalgene 0,2 µm 1L (Thermo Fisher, 165-0045).

[0120] B. Production de matériel[0121] *I. Culture primaire*

[0122] La souche bactérienne appropriée a été réactivée à partir de stocks congelés (les souches ont été conservées dans le milieu de culture avec 25 % de glycérol). À l'aide d'une boucle d'inoculation, le stock congelé des bactéries d'intérêt est transféré dans une plaque d'agar R2A modifié puis la plaque a été incubée pendant 3 ou 4 jours à 25 °C jusqu'à ce que les colonies jaunes, caractéristiques de *S. glacialis*, soient visibles.

[0123] Une colonie est recueillie et utilisée pour inoculer 20 ml de milieu de culture modifié et le mélange est incubé à 25 °C pendant 2 jours à 200 rpm. Cette culture liquide est ensuite utilisée pour inoculer la culture primaire de 200 ml. Cette culture primaire est incubée pendant 2 jours 25°C pendant 24 heures à 200 rpm.

[0124] Cette culture primaire est ensuite utilisée pour inoculer un fermenteur biostat

sartorius® avec 4L de milieu R2A modifié. La fermentation a duré 48 heures à 25°C.

[0125] *II. Création de matériel cellulaire*

[0126] La fermentation est effectuée jusqu'à ce que la culture ait atteint une densité optique OD600 ~ 10 où nous estimons qu'il y a  $2,50 \times 10^{10}$  cellules/ml.

[0127] Le fermentat est ensuite autoclavé à l'aide d'un cycle liquide (121°C, 103 kPa pendant 15 minutes) puis centrifugé. Le culot constitué de biomasse inactivée de *Sphingomonas glacialis* est ensuite lyophilisé.

**Exemple 2 : Augmentation de l'expression du collagène de type I par les fibroblastes en présence de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention.**

[0128] Des fibroblastes humains dits « normaux », c'est-à-dire ne présentant pas de pathologie, issus d'une donneuse saine de 34 ans ont été cultivés dans un milieu défini (FGM) durant une période de 48 heures en présence de biomasse inactivée de *Sphingomonas glacialis* obtenue par fermentation selon l'exemple 1 puis le milieu cellulaire a été éliminé. Le même milieu de culture sans ajout de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention a été utilisé comme témoin (contrôle). Le tapis cellulaire obtenu a été lysé avec une solution d'hydroxyde d'ammonium.

[0129] Le dosage du collagène de type I a été effectué à partir du lysat obtenu avec un anticorps anti-collagène I, utilisé à 500 ng/mL dans une solution tampon (PBS). Après une période de 60 minutes, un anticorps secondaire utilisé à 40 ng/mL a été appliqué durant une période de 60 minutes. Après 5 lavages, une solution de révélation a été ajoutée et la fluorescence a été mesurée (ENVision, PerkinElmer). Les résultats de fluorescence ont été normalisés par rapport à la fluorescence obtenue avec le même milieu cellulaire en l'absence des différents *Sphingomonas glacialis* selon l'invention testés (contrôle) et ont été rapportés à la quantité d'ADN obtenue dans chaque condition. Les résultats présentés dans le tableau 2 ci-dessous correspondent à la moyenne de 6 essais (n=6). (ET : Ecart-type).

[0130] Toutes les dilutions sont exprimées en p/p.

[0131] [Tableaux2]

	Moyenne de stimulation (%)	Ecart-type	Significativité vs contrôle
Contrôle	100	21	-
Biomasse inactivée <i>S glacialis</i> selon l'exemple 1.B.II 0,0004%	197	39	***
Biomasse inactivée <i>S glacialis</i> selon l'exemple 1.B.II 0,00004%	137	27	*
Milieu de fermentation de <i>S glacialis</i> selon l'exemple 1.B.II (biomasse éliminée par centrifugation) 0,003%	101	18	ns

[0132] La biomasse inactivée de *Sphingomonas glacialis* obtenu selon l'exemple 1.B.II, produit de l'invention, a augmenté l'expression protéique du collagène de type I d'au moins +37% et jusqu'à +97% dans les fibroblastes cutanés humain cultivés in vitro.

[0133] *Sphingomonas glacialis* est donc bien capable d'améliorer les propriétés biomécaniques de la peau notamment la fermeté et/ou de prévenir et/ou diminuer le vieillissement cutané.

**Exemple 3 : Augmentation de l'expression du collagène de type V par les fibroblastes en présence de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention.**

[0134] Des fibroblastes humains dits « normaux », c'est-à-dire ne présentant pas de pathologie, issus d'une donneuse saine de 34 ans ont été cultivés dans un milieu défini (FGM) durant une période de 48 heures en présence de concentrations finales différentes de biomasse inactivée de *Sphingomonas glacialis* puis le milieu cellulaire a été éliminé. Le même milieu de culture sans ajout de *Sphingomonas glacialis* selon l'invention a été utilisé comme témoin (Contrôle).

[0135] Le tapis cellulaire obtenu a été lysé avec une solution d'hydroxyde d'ammonium, puis le dosage du collagène de type V a été effectué avec un anticorps anti-collagène V, dilué au 1/4000 dans une solution tampon (PBS). Après une période de 60 minutes,

un anticorps secondaire dilué au 1/25000 a été appliqué durant une période de 60 minutes.

[0136] Après lavage, une solution de révélation a été ajoutée et la fluorescence a été mesurée (ENVision, PerkinElmer). Les résultats de fluorescence ont été normalisés par rapport à la fluorescence obtenue avec le même milieu cellulaire en l'absence de biomasse inactivée de *S. glacialis* (Contrôle) et ont été rapportés à la quantité d'ADN obtenue dans chaque condition.

[0137] Les résultats présentés dans le tableau 3 ci-dessous correspondent à la moyenne de 6 essais (n=6).

[0138] [Tableaux3]

	Moyenne de stimulation (%)	Ecart-type	Significativité vs contrôle
Contrôle	100	7	-
Biomasse inactivée <i>S glacialis</i> selon l'exemple 1.B.II 0,0004%	123	11	***
Biomasse inactivée <i>S glacialis</i> selon l'exemple 1.B.II 0,00004%	99	6	ns

[0139] La biomasse inactivée de *Sphingomonas glacialis* obtenue selon l'exemple 1.B.II a augmenté l'expression protéique du collagène de type V d'au moins +23% dans les fibroblastes cutanés humain cultivés in vitro analysés.

[0140] *Sphingomonas glacialis* est donc bien capable d'améliorer les propriétés biomécaniques de la peau notamment la fermeté et/ou de prévenir et/ou diminuer le vieillissement cutané.

**Exemple 4 : Exemple d'ingrédient cosmétique comprenant *Sphingomonas glacialis* dilué dans un solvant selon l'invention**

[0141] [Tableau 4].

<i>Sphingomonas glacialis</i> selon l'exemple 1.B.II (Biomasse inactivée <i>S glacialis</i> )	0,2%
Glycérine	80%
Eau	QSP 100

**Exemple 5 : Exemple d'ingrédient cosmétique comprenant *Sphingomonas***

***glacialis* dans la maltodextrine selon l'invention**

[0142] [Tableaux5]

<i>Sphingomonas glacialis</i> selon l'exemple 1.B.II (Biomasse inactivée <i>S glacialis</i> )	1%
Maltodextrine	99%

**Exemple 6 : Exemple de composition cosmétique comprenant *Sphingomonas glacialis* selon l'invention**

[0143] On procède selon les méthodes connues de l'homme du métier pour mélanger ensemble les différentes phases A, B, C, D ci-dessous pour préparer une composition selon la présente invention. Les proportions sont exprimées en % en poids et les noms en majuscules correspondent aux noms INCI des ingrédients.

[0144] [Tableaux6]

<b>Phase A</b>	Quantité (% en poids total)
Glyceryl stearate and peg-100 stearate	4,00
Pentaerythrityl distearate	1,50
Cetearyl isononanoate	3,00
Propylheptyl caprylate	5,00
Coco caprylate	2,00
Dicaprylyl carbonate	3,00
Diméthicone	1,00
<b>Phase B</b>	
Eau	64,43
Propylène glycol, phénoxyéthanol, chlorphénésine, méthyl-parabène	1,00
Glycérine	1,57
Gomme de xanthane	0,20
Butylène glycol	2,00
Hydroxyde de sodium, eau	0,15
<b>Phase C</b>	
Carbomère	0,15
Eau	10,5
<b>Phase D</b>	
<i>Sphingomonas glacialis</i> sous forme d'ingrédient cosmétique selon exemple 5	0,5

**Exemple 7 : Exemple d'une crème dermatologique comprenant *Sphingomonas glacialis* selon l'invention**

[0145] [Tableaux7]

Phase	Dénomination	Quantité (% en poids total)
A	Eau	79,6
A	Propylene glycol (and) phenoxyethanol (and) chlorphenesin (and) methylparaben	2,5
A	Glycérine	2
A	Sodium stearoyl glutamate	0,5
B	Dicaprylyl carbonate	3
B	Coco-caprylate / caprate	3
B	Caprylic / capric triglyceride	3
B	Sucrose polystearate (and) cetyl palmitate	3
B	Pentaerythrityl distearate	1
B	Sodium polyacrylate	0,7
C	Eau	0,9
C	<i>Sphingomonas glacialis</i> selon l'exemple 5	0,1
D	Acide citrique et eau	0,7

[0146] Les phases A et B sont chauffées à 75° puis mélangés sous agitation. Une fois que le mélange est revenu à température ambiante, les phases C et D sont ajoutées sous agitation.

## Revendications

- [Revendication 1] Utilisation cosmétique par voie topique de *Sphingomonas glacialis* comme ingrédient actif pour le soin cosmétique des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [Revendication 2] Utilisation selon la revendication 1 pour prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, notamment pour prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [Revendication 3] Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, pour maintenir et/ou augmenter la fermeté et/ou la densité et/ou l'élasticité des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [Revendication 4] Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, pour maintenir et/ou augmenter l'expression de collagène de type I et/ou V.
- [Revendication 5] Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que *Sphingomonas glacialis* et/ou une composition cosmétique la comprenant est destinée à être appliquée sur tout ou partie du corps et/ou du visage et/ou du cuir chevelu, préférentiellement sur une zone de peau saine présentant un relâchement et/ou une zone de peau saine affaissée et/ou une zone de peau saine manquant de tonicité.
- [Revendication 6] Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle *Sphingomonas glacialis* se trouve sous forme entière, notamment viable et/ou mort, et/ou sous forme partielle, notamment sous forme de lysat, et/ou sous forme de l'une ou plusieurs de ses fractions, et/ou sous forme d'un ou plusieurs de ses métabolites.
- [Revendication 7] Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle *Sphingomonas glacialis* se trouve sous la forme d'une composition cosmétique comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable, avantageusement la composition comprenant *Sphingomonas glacialis* a une concentration de  $1 \times 10^{-4}\%$  à  $10\%$  (p/p) en poids, préférentiellement de  $1 \times 10^{-3}\%$  à  $10\%$  (p/p) en poids, avantageusement de  $1 \times 10^{-3}\%$  à  $3\%$  (p/p) en poids, plus préférentiellement de  $0,01\%$  à  $3\%$  (p/p) en poids, et encore plus préférentiellement de  $0,1\%$  à  $1\%$  (p/p) en poids, par rapport au poids total de la composition.
- [Revendication 8] Procédé de soin cosmétique des peaux saines et/ou des annexes cutanées

- saines et/ou des muqueuses saines caractérisé en ce qu'il comprend l'application par voie topique sur au moins une zone de peau saine et/ou d'annexe cutanée saine et/ou de muqueuse saine de *Sphingomonas glacialis* ou d'une composition cosmétique la comprenant.
- [Revendication 9] Procédé de soin cosmétique selon la revendication 8 pour prévenir et/ou diminuer les manifestations inesthétiques et/ou inconfortables et/ou désagréables des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines, notamment pour prévenir et/ou diminuer le vieillissement et/ou maintenir et/ou augmenter les propriétés biomécaniques des peaux saines et/ou des annexes cutanées saines et/ou des muqueuses saines.
- [Revendication 10] Procédé de soin cosmétique selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9, pour maintenir et/ou augmenter la fermeté et/ou la densité et/ou l'élasticité des peaux saines et/ou des muqueuses saines.
- [Revendication 11] Procédé de soin cosmétique selon l'une quelconque des revendications 8 à 10, pour maintenir et/ou augmenter l'expression de collagène de type I et / ou V.
- [Revendication 12] Procédé de soin cosmétique selon l'une quelconque des revendication 8 à 11, dans lequel l'application est effectuée sur tout ou partie du corps et/ou du visage et/ou du cuir chevelu, préférentiellement les jambes, les cuisses, les bras, le ventre, le décolleté, le cou, les aisselles, les lèvres, encore préférentiellement tout ou partie du visage, et préférentiellement les joues, le front, le menton, les lèvres, le contour des yeux.
- [Revendication 13] Procédé de soin cosmétique selon l'une quelconque des revendication 8 à 12, dans lequel la composition cosmétique comprend *Sphingomonas glacialis*, à une concentration de  $1 \times 10^{-4}\%$  à 10% (p/p) en poids, préférentiellement de  $1 \times 10^{-3}\%$  à 10% (p/p) en poids, avantageusement de  $1 \times 10^{-3}\%$  à 3% (p/p) en poids, plus préférentiellement de 0,01% à 3% (p/p) en poids, et encore plus préférentiellement de 0,1 % à 1% (p/p) en poids, par rapport au poids total de la composition, ladite composition comprenant en outre au moins un excipient cosmétiquement acceptable.
- [Revendication 14] *Sphingomonas glacialis* ou d'une composition dermatologique la comprenant, pour son utilisation par voie topique dans le traitement des peaux pathologiques et/ou des annexes cutanées pathologiques et/ou des muqueuses pathologiques, en particulier pour maintenir et/ou augmenter à des fins thérapeutiques, la densité des tissus pathologiques qui ont perdus de leur élasticité sous l'effet de pathologies, et/ou la fermeté et/ou de l'élasticité des peaux pathologiques et/ou d'annexes cutanées pa-

thologiques et/ou des muqueuses pathologiques qui ont respectivement perdus de leur fermeté sous l'effet de pathologies comme par exemple la couperose, les télangiectasies et/ou de leur élasticité sous l'effet de pathologies comme par exemple l'élastose solaire et/ou la pathologie cutis laxa.

- [Revendication 15] *Sphingomonas glacialis* pour son utilisation selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'il se trouve sous la forme d'une composition dermatologique comprenant au moins un excipient dermatologiquement acceptable.
- [Revendication 16] Composition cosmétique et/ou dermatologique destinée à une application par voie topique comprenant *Sphingomonas glacialis* et un excipient cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.
- [Revendication 17] Composition selon la revendication 16, caractérisé en ce que *Sphingomonas glacialis* est présente dans ladite composition à une teneur comprise entre  $1 \times 10^{-4}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, préférentiellement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $10\%$  (p/p) en poids, avantageusement entre  $1 \times 10^{-3}\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, plus préférentiellement entre  $0,01\%$  et  $3\%$  (p/p) en poids, et encore plus préférentiellement entre  $0,1\%$  et  $1\%$  (p/p) en poids, par rapport au poids total de la composition.
- [Revendication 18] Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications 16 ou 17, comprenant en outre un ou plusieurs ingrédients actifs cosmétiques tels que des actifs hydratants, des actifs anti-âges, des actifs anti-radicalaires, des agents protecteurs du facteur de croissance des fibroblastes (FGF), des agents stimulant l'activité et/ou la prolifération des fibroblastes et/ou des eaux thermales.

# RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

## OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

---

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

## CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

---

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

## DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

---

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

**1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION**

ZHANG DE-CHAO ET AL: "Sphingomonas glacialis sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from alpine glacier cryoconite",  
INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY,  
vol. 61, no. 3, 1 mars 2011 (2011-03-01),  
pages 587-591, XP055974438,  
GB  
ISSN: 1466-5026, DOI:  
10.1099/ijs.0.023135-0  
Extrait de l'Internet:  
URL: <https://www.microbiologyresearch.org/doi/10.1099/ijs.0.023135-0>  
ocserver/fulltext/ijsem/61/3/587.pdf?expires=1666687766&id=id&accname=sgid024200&checksum=556DB081B4CCE32756D167E4089839DC>

**2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL**

CN 109 234 180 A (JALA CORP)  
18 janvier 2019 (2019-01-18)

US 9 868 957 B2 (TOPGENIX INC [US])  
16 janvier 2018 (2018-01-16)

EP 3 896 174 A1 (MD HEALTHCARE INC [KR])  
20 octobre 2021 (2021-10-20)  
& CA 3 111 069 A1 (MD HEALTHCARE INC [KR])  
18 juin 2020 (2020-06-18)

**3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES**

NEANT