

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Impacto dos Cosméticos no Microbiota da Pele

Inês Sofia Ferreira Beato

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2016/2017

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Impacto dos Cosméticos no Microbiota da Pele

Inês Sofia Ferreira Beato

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de
Farmácia**

Orientador: Prof. Dra. Helena Margarida Ribeiro

2016/2017

Resumo

O microbiota da pele que era, até então, desvalorizado e desconhecido, tem provado ser um dos principais fatores que contribuem para a saúde dermatológica. Afinal, a preservação dos microrganismos que se distribuem pela superfície da pele é fundamental para a diminuição de incidência e prevalência de doenças e problemas dermatológicos como a acne, rosácea, psoríase, dermatite atópica, entre outros.

A relação comensal estabelecida entre o epitélio celular da pele e estes microrganismos revelou ser a base para um normal funcionamento da resposta imunitária da pele ao mesmo tempo que, a sua perturbação, desencadeia uma resposta inflamatória exacerbada que, por sua vez está na origem dos problemas cutâneos acima referidos.

A utilização de cosméticos, pelos ingredientes que os constituem, é algo que desequilibra o microbiota da pele, favorecendo o crescimento de determinados microrganismos ao invés de outros. Deste modo, a relação entre o epitélio e o microbiota deixa de ser comensal e, pela presença de micróbios oportunistas, poderá passar a ser patológica. Isto leva a indústria a apostar, cada vez mais, na investigação pormenorizada do microbiota e, de que modo é que os cosméticos moldam a constituição e distribuição do mesmo.

Pelos resultados obtidos, que demonstraram um impacto negativo na pele pela utilização de cosméticos, a procura por novos ingredientes tem sido o foco de muitas empresas de produção de matérias primas e de formulação de cosméticos.

A utilização de pro e probióticos nos cosméticos, apesar de gerar, ainda, muita controvérsia junto de profissionais de saúde, pelo risco associado à sua utilização, poderá ser uma solução para os problemas de pele bem como para a sua prevenção.

Tal como os pro e prebióticos, a utilização de microrganismos geneticamente modificados e ainda de conservantes que fomentem o crescimento seletivo de seres comensais, desfavorecendo o desenvolvimento dos potenciais patogénicos pode, também, ser o futuro da indústria cosmética.

No fundo, apesar de potencialmente benéficas, para que estas mudanças na indústria cosmética sejam implementadas, há ainda um longo caminho a percorrer pela necessidade de serem rigorosamente estudadas de modo a culminarem em produtos seguros e eficazes.

Palavras-chave: microbiota; pele; impacto; cosméticos; doenças de pele; novos ingredientes; futuro; indústria.

Abstract

The microbiota of the skin, which until now had been devalued and unknown, has proven to be one of the main factors contributing to dermatological health. After all, the preservation of the microorganisms that are distributed on the surface of the skin is fundamental for reducing the incidence and prevalence of diseases and dermatological problems such as acne, rosacea, psoriasis, atopic dermatitis, among others.

The commensal relationship established between the cellular epithelium of the skin and these microorganisms has proved to be the basis for a normal functioning of the immune response of the skin and, at the same time, its perturbation triggers an exacerbated inflammatory response that in turn, may be the origin of the skin problems already referred.

The use of cosmetics, by the ingredients that constitute them, is something that unbalances the microbiota of the skin, favoring the growth of certain microorganisms instead of others. Thus, the relationship between the epithelium and the microbiota ceases to be commensal and, due to the presence of opportunistic microbes, may become pathological.

This leads industry to increasingly focus on the detailed research of the microbiota and on how cosmetics shape the makeup and distribution of the microbiota.

From the results obtained, which have shown that cosmetics have a negative impact on the skin, the search for new ingredients has been the focus of many companies.

The use of pro and probiotics in cosmetics could be a solution for skin problems as well as their prevention, although generating much controversy among health professionals because of the risk associated with their use. Like pro and prebiotics, the use of genetically modified microorganisms and preservatives that foster the selective growth of commensal beings disfavoring the development of pathogenic ones, may also be the future of the cosmetic industry.

Lastly, for these changes in the cosmetic industry to happen, there is still a long way to go and many studies must be done to prove their efficiency and the security.

Key-words: microbiota; skin; impact; cosmetics; skin diseases; new ingredients; future; industry.

Abreviaturas

A.C. – Antes de Cristo

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ASM – American Society for Microbiology

HDAC – Histonas deacetilases

KLK – Calicreína

PAR – Protease activated receptor

RNA – Ácido ribonucleico

SSB - Skin surface biopsy

TLR – Toll-like receptors

Índice:

1	Introdução.....	8
2	Materiais e Métodos.....	10
3	O Microbiota da Pele	11
3.1	Caracterização.....	11
3.2	Constituição.....	12
3.3	Distribuição do Microbiota da Pele.....	14
3.3.1	Ácaros	14
3.3.2	Fungos	14
3.3.3	Bactérias.....	16
3.4	Estabilidade do Microbiota.....	18
3.5	Interação do Microbiota com a Pele.....	19
4	Impacto do Microbiota na Saúde da Pele	22
4.1	Acne	23
4.2	Psoríase.....	25
4.3	Rosácea.....	26
4.4	Dermatite Seborreica.....	27
4.5	Dermatite Atópica.....	28
5	. Evolução da Indústria Cosmética.....	31
6	Impacto do Uso de Produtos Cosméticos no Microbiota da Pele	32
6.1	Modificação do Microbiota pelo uso de produtos cosméticos	34
6.1.1	Conservantes.....	34
6.1.2	Desodorizantes e Antitranspirantes	39
6.1.3	Maquilhagem.....	40
6.1.4	Álcoois.....	40
6.1.5	Considerações finais	41
7	O Futuro da Indústria Cosmética.....	43
7.1	Bioengenharia na formulação cosmética	43
7.1.1	Produção de Ácido Hialurónico.....	43
7.1.2	Produção de Esfingosinas e Ceramidas	44
7.1.3	Produção de Tensioativos	44
7.1.4	Produção de Esqualeno.....	46
7.2	Pro e prebióticos.....	46
7.3	Novas apostas da Indústria	48
8	Conclusões.....	52
	Referências Bibliográficas	54

Índice de Figuras:

Figura 1 – Variação interpessoal do microbiota da pele em 4 voluntários saudáveis (HV1, HV2, HV3, HV4). Retirado de (4).....	11
Figura 2 – Diversidade fúngica na pele humana. Retirado de (15)	15
Figura 3 – Abundância relativa de géneros de fungos e espécies <i>Malassezia</i> em diferentes locais da pele humana em 10 indivíduos diferentes. Retirado de (16)	16
Figura 4 – Distribuição topográfica de bactérias nos diferentes locais da pele. Retirado de (4).....	17

Figura 5 – Curvas de rarefação individuais para as palmas das mãos e testa. Retirado de (19).....	Error! Bookmark not defined.
Figura 6 – Abundância relativa de diferentes bactérias no nariz de peles normais e peles acneicas. Retirado de (30)	24
Figura 7 – Distribuição das 10 estirpes de P.acnes mais abundantes em indivíduos com pele normal e pele acneica. Retirado de (30).....	24
Figura 8 – Evolução ao longo do tempo (D – dia) da abundância relativa de bactérias após aplicação de um cosmético contendo um extrato da planta Haberlea rhodopensis (lado direito) e de um placebo (lado esquerdo). Adaptado de (47)	32

Índice de Tabelas:

Tabela 1 – Potenciais interações entre as células da pele humanas e o microbiota. Adaptado de (10).....	19
Tabela 2 – Alterações na diversidade microbiana da pele normal vs. pele com dermatite atópica. Adaptado de (44).....	29
Tabela 3 – Mecanismos de severidade da dermatite atópica mediados por S.aureus. Adaptado de (44).....	29
Tabela 4 – Classificação dos microrganismos de acordo com a sua sensibilidade aos conservantes. Retirado de (56).....	35
Tabela 5 – Atividade antimicrobiana do triclosan. Retirado de (58)	36
Tabela 6 – Tipos de produtos que podem conter triclosan na sua constituição e respectivas concentrações permitidas na Europa. Adaptado de (61)	37
Tabela 8 – Resultados da MIC no teste do filtrado de fermento de raiz de rábano. Retirado de (20).....	38
Tabela 9 – Inibição do crescimento microbiano pelo filtrado de fermento de raiz de rábano. Retirado de (20).....	38
Tabela 10 – Estirpes recombinantes e impacto na produção de tensoativos. Adaptado de (81).....	45

1 Introdução

A pele pertence ao sistema tegumentar do corpo humano sendo o maior órgão do mesmo.

É um órgão em constante renovação e tem um papel fundamental na proteção do organismo, uma vez que, a sua função principal é a de barreira física, impedindo a entrada de microrganismos.

Para além desta, possui ainda outras funções como a sensorial, reguladora da temperatura corporal e ainda produção de vitamina D (essencial a inúmeros processos fisiológicos). Cuidar da pele torna-se assim essencial para um normal funcionamento do organismo.

A preocupação em cuidar da pele conta já com vários anos de história, estimando-se que 10000 anos A.C. a população egípcia utilizaria óleos e pomadas para limpar e suavizar as suas peles e, já nos Séculos IV e V, as mulheres na Índia não utilizavam sabão na sua higiene, mas sim, um creme antisséptico de açafraão e um tratamento à base de farinha e casca de trigo com leite que teria uma função esfoliante e removeria as células mortas. (1)

Com o lançamento, em 2008, do projecto *Human Microbiome Project*, o *National Institutes of Health* pretendia alargar o conhecimento acerca do microbiota humano, através da descoberta das diversas comunidades de microrganismos que colonizam as diferentes partes do corpo humano bem como as suas funções. Assim, seria possível explicar de que forma estas comunidades se alteram aquando uma patologia, evitando transtornos no sistema imunológico. (2)

O conhecimento da constituição do microbiota da pele veio então facilitar a compreensão do funcionamento do mesmo isoladamente e, em sinergia com o epitélio cutâneo. Conhecimento este que, conseqüentemente, despoletou um enorme interesse científico pelo microbiota da pele devido ao seu potencial revolucionário na indústria cosmética e farmacêutica, uma vez que, grande parte dos problemas e doenças de pele poderão estar associados a um desequilíbrio no mesmo.

Fatores extrínsecos como a exposição solar, a poluição, a falta de higiene, a utilização de produtos cosméticos, afetam a homeostasia dos microrganismos que residem no nosso órgão mais extenso, a pele.

Deste modo, os cosméticos que até hoje foram desenvolvidos poderão estar a comprometer a integridade do microbiota e claro, a saúde da pele.

Neste sentido, a presente monografia tem como principal objectivo descrever o impacto que os cosméticos têm na constituição microbiológica cutânea e nas funções do microbiota, tentando relacionar a sua utilização com o aumento acentuado do aparecimento de doenças e problemas de pele, que se tem verificado nos últimos anos. Por fim, pretende perspetivar acerca do futuro da industria cosmética tendo por base os conhecimentos científicos atuais.

2 Materiais e Métodos

Para elaborar a presente monografia, foi reunida a informação necessária através da pesquisa de publicações científicas recorrendo aos motores de busca PubMed, ScienceDirect, Cosmetics and Toiletries Google Scholar, Google Patents e Free Patent Online.

Numa primeira fase, a recolha de informação foi realizada através de artigos de revisão, permitindo obter uma visão geral do tema tendo-se, posteriormente, aprofundado e completado a pesquisa com artigos mais específicos.

Foram selecionados artigos de interesse de acordo com a sua fonte, relevância e data de publicação que, variou de 1987 a 2017. Estes artigos descrevem tanto estudos qualitativos como quantitativos.

As palavras-chave e expressões que permitiram encontrar a informação necessária foram: “microbiota da pele”, “impacto dos cosméticos”, “doenças de pele”, “acne”, “rosácea”, “psoríase”, “dermatite seborreica”, “dermatite atópica”, “conservantes”, “maquilhagem”, “novos ingredientes”, “formulações cosméticas”.

3 O Microbiota da Pele

3.1 Caracterização

Microbiota é a designação que se dá a uma comunidade de microrganismos que vive, de forma estável num ecossistema, neste caso, a pele, sendo o seu material genético correspondente designado de microbioma.

É sabido que sobre a pele estão presentes milhares de microrganismos tais como bactérias, vírus, fungos e artrópodes (3). Estes constituem, assim, o microbiota da pele e, variam entre indivíduos e entre diferentes locais do corpo, sendo que, é mais provável que os microrganismos encontrados nas mesmas zonas do corpo de diferentes indivíduos sejam semelhantes, do que, os microrganismos encontrados em diferentes zonas do corpo no mesmo indivíduo (Figura 1) (4).

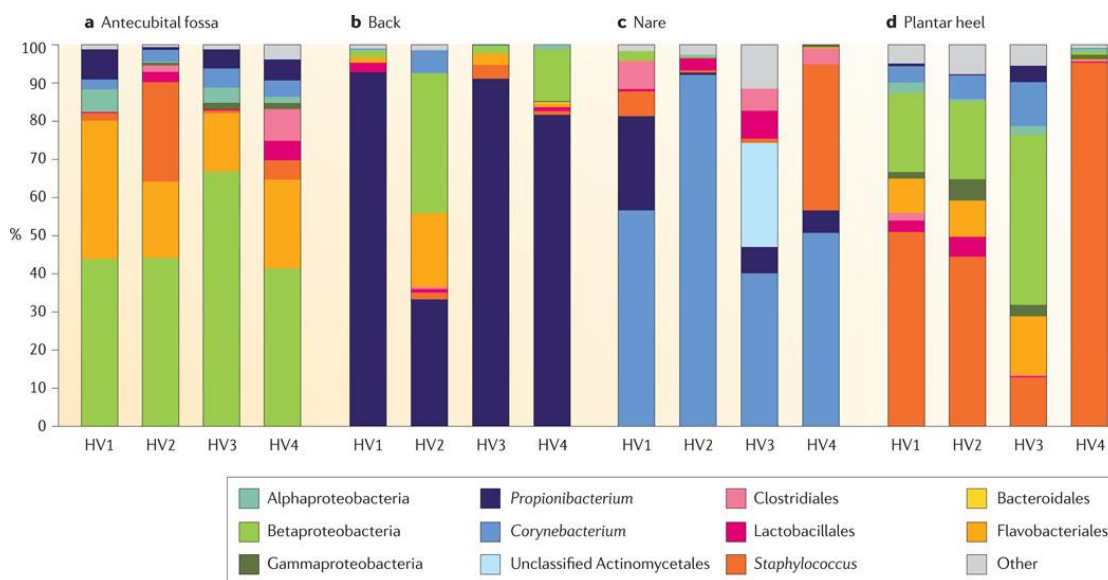


Figura 1 – Variação interpessoal do microbiota da pele em 4 voluntários saudáveis (HV1, HV2, HV3, HV4). Retirado de (4)

Deste modo, considera-se que o fator com maior influência na diversidade microbiológica da pele é a localização corporal (2) e as características a moldam como, pH, temperatura, humidade, presença de sebo e expressão de péptidos antimicrobianos. (5,6)

Assim, apesar do conhecimento acerca da existência do microbiota da pele, este veio revelar-se mais complexo do que se imaginava à medida que foram feitos estudos pormenorizados acerca da constituição do mesmo.

3.2 Constituição

Desde o nascimento que o organismo sofre constantes alterações fisiológicas e, a pele, como órgão que integra o mesmo, não é exceção. Estas, são influenciadas por diversos fatores, quer genéticos quer ambientais, sendo o organismo do indivíduo moldado pelas características do meio onde se insere. O mesmo acontece com o microbiota da pele.

Nas 24 horas que sucedem o parto, a constituição do microbiota da pele é influenciada pelo tipo de parto realizado pois, crianças que nascem vaginalmente apresentam um microbiota da pele semelhante ao microbiota do canal vaginal da progenitora enquanto que, as crianças que nascem por cesariana apresentam um microbiota que se relaciona com o microbiota da pele da mãe. Por esta altura, a função barreira da pele é mais fraca estando mais vulnerável ao aparecimento de doenças e problemas dermatológicos. (7)

Com o avançar da idade, a diversidade e complexidade do microbiota da pele aumenta (8), chegando a ser de tal modo extenso que se calcula que 1 cm² de pele contém em média 1 bilião de bactérias (9) que, juntamente com os restantes microrganismos da pele, corresponde, em média, a dez vezes mais células microbianas que células humanas.(10)

Fatores intrínsecos como a idade, o sexo, herança genética, reatividade imunológica e extrínsecos como fatores ambientais, higiene, toma de medicamentos e estilo de vida têm um papel fundamental na composição do microbiota da pele. (3,9)

Destes, o género e a idade têm um peso bastante significativo pois, deles advêm diferenças na produção de hormonas, suor e sebo; no pH da pele; na espessura da pele e no crescimento piloso, tudo fatores que determinam o tipo de microbiota (11). Por exemplo, num estudo feito à epiderme, as mulheres apresentaram uma diversidade de microrganismos na pele das mãos superior à dos homens, podendo isto estar relacionado com o facto da pele das suas mãos ser menos ácida. (12)

Num estudo feito pelo *National Institute of Health, National Human Genome Research Institute* e pelo *National Cancer Institute*, foram estudadas amostras de pele de 20 locais do corpo diferentes, de 10 voluntários saudáveis, as quais, através da sequenciação de genes de RNA ribossomal 16S, revelaram bactérias de 19 filos e 205 géneros diferentes. Destes, 51,8% seriam do filo *Actinobacterias*, 24,4% do filo

Firmicutes, 16,5% do filo *Proteobacteria* e 6,3% do filo *Bacteroidetes*. Os géneros mais identificados foram *Corynebacterium*, *Propionibacterium* e *Staphylococcus*.(2)

Em oposição aos adultos, o género *Firmicutes* é o mais prevalente nas crianças podendo dever-se ao facto destas apresentarem características da pele diferentes, nomeadamente, uma hidratação superior e um baixo conteúdo em sebo. (10)

O microbiota pode ser dividido em dois grupos: microrganismos residentes e microrganismos transitórios (que, por sua vez, se podem dividir em comensais ou patogénicos). Os primeiros consistem num grupo, relativamente fixo de microrganismos que se encontram rotineiramente na pele e, em caso de perturbação, o mesmo reestabelece-se. Neste caso, são normalmente considerados microrganismos comensais pois, a relação que estabelecem com a pele não é prejudicial e pode trazer benefícios para o hospedeiro.

Os microrganismos transitórios não permanecem permanentemente na pele, surgem do ambiente e podem persistir na pele durante diferentes períodos de tempo.

Ambos os grupos não são patogénicos sob condições de higiene e de imunidade normais e função de barreira da pele intacta ou, poderão sê-lo caso haja algum tipo de desequilíbrio no microbiota da pele, levando a que estes proliferem e desencadeiem uma doença. (9)

Microrganismos previamente considerados patogénicos como, por exemplo, os da espécie *Staphylococcus aureus*, foram identificados em populações microbianas isoladas a partir de amostras de pele saudável. Por outro lado, algumas espécies consideradas comensais, demonstraram ser oportunistas. Um exemplo disso são os microrganismos da espécie *Staphylococcus epidermidis* que, para além de demonstrarem ser patogénicos em indivíduos imunocomprometidos, podem formar biofilmes nos cateteres durante intubações de crianças. (9,10)

A presença de fungos na superfície da pele também é significativa. Através de marcadores filogenéticos, como o RNA ribossomal 18S, foram identificados 80 géneros de fungos, entre eles: *Malassezia*, *Aspergillus*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Epicoccum*, *Candida*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Leptosphaerulina*, *Penicillium*, *Phoma*. (3,9,13)

Também algumas espécies de ácaros habitam a superfície cutânea, especialmente em regiões sebáceas, sendo detetados por biópsia à superfície da pele (SSB – *skin surface biopsy*) através de uma adesão cianoacrilica. (14)

Quanto à presença de vírus, esta ainda foi pouco estudada devido à falta de meios de identificação e caracterização dos mesmos pois, estes são limitados pela falta de hibridação de ácidos nucleicos que permitem o conhecimento da sequência genómica viral que, por sua vez, tem um tamanho muito reduzido, o que aumenta ainda mais a dificuldade na sua deteção. (3,9)

Ainda assim, é sabido que os vírus estão presentes na superfície cutânea de forma desigual entre indivíduos, sem distribuição específica, ao contrário das bactérias e dos fungos que se distribuem consoante a disponibilidade nutricional nas diferentes regiões do corpo. (5)

3.3 Distribuição do Microbiota da Pele

O microbiota da pele é vasto e complexo, sendo composto pelos mais variados microrganismos que se distribuem de diferentes modos pela superfície corporal. Esta distribuição, por sua vez, depende das diversas propriedades da pele nas diferentes zonas do corpo que providenciam microambientes distintos para vários tipos de ecossistemas microbianos. (10)

3.3.1 Ácaros

Os ácaros (*Demodex mites*) distribuem-se normalmente pelas zonas sebáceas. São conhecidas duas espécies no microbiota da pele humano, *Demodex folliculorum* e *Demodex brevis*. O primeiro, encontra-se principalmente na face, nos canais superiores das unidades pilossebáceas e, alimenta-se de células da pele e de sebo; o segundo, encontra-se maioritariamente na zona do peito e pescoço (também pode ser encontrado nas glândulas meibomianas, localizadas nas pálpebras), nas zonas mais profundas dos ductos e glândulas sebáceas, alimentando-se das células das glândulas. (14,15)

3.3.2 Fungos

Os fungos que pertencem ao microbioma da pele são, na sua maioria, do género *Malassezia*, são lipofílicos e encontram-se normalmente nas zonas mais ricas em sebo (Figura 2). Deste, três espécies obtiveram maior destaque: *M. globosa*, *M.*

restricta, e *M.symphodialis* (13). Estes distribuem-se dependendo das suas necessidades lipídicas (3).

M.globosa está presente maioritariamente nas costas, na crista inguinal e no occipital; *M. restricta* no couro cabeludo, canal auditivo externo, crista retro auricular e glabella; *M.symphodialis* não tem uma localização definida, encontrando-se em diversas regiões do corpo (Figura 3). (3,13,16)

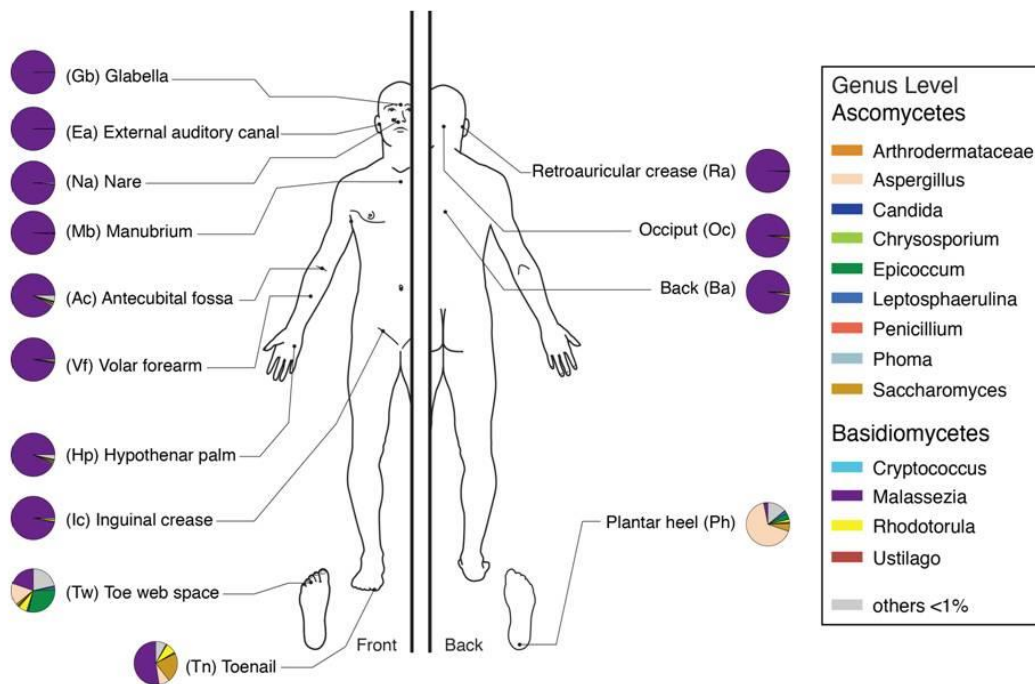


Figura 2 – Diversidade fúngica na pele humana. Retirado de (17)

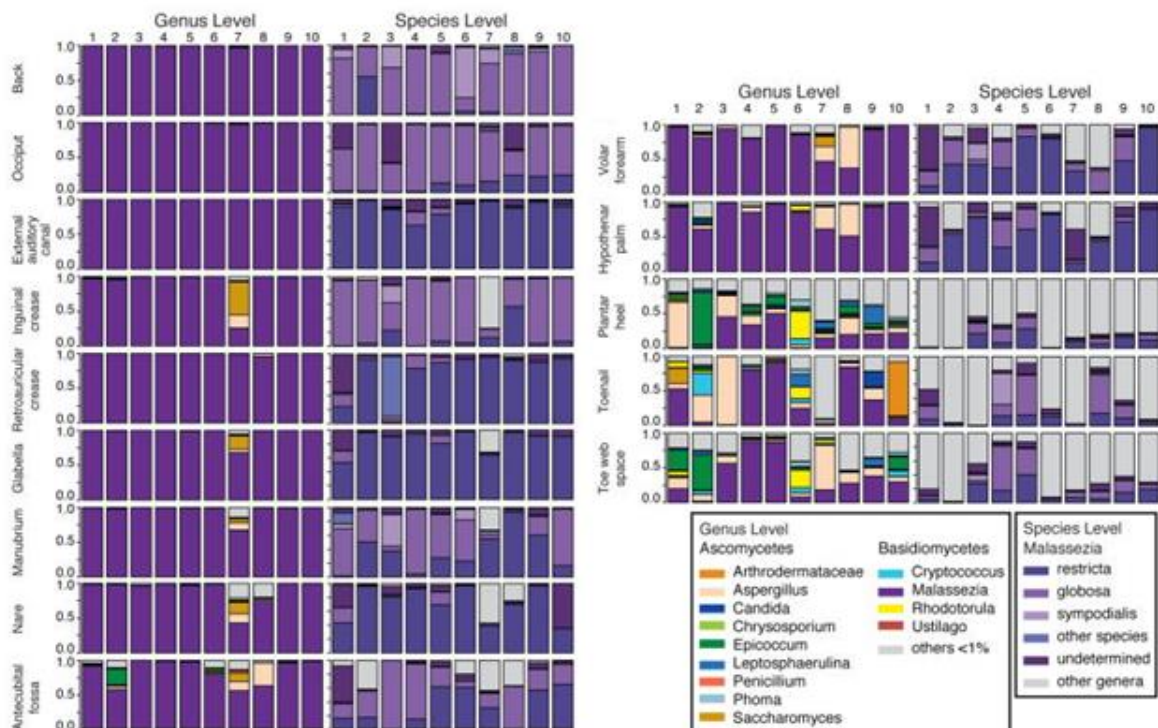


Figura 3 – Abundância relativa de gêneros de fungos e espécies *Malassezia* em diferentes locais da pele humana em 10 indivíduos diferentes. Retirado de (16)

Os restantes gêneros de fungos que constituem o microbiota da pele têm como localização preferencial o pé, que é, por sua vez, o local do corpo com maior diversidade de fungos (Figuras 2 e 3). Nesta zona, o calcanhar foi a região que maior diversidade apresentou, seguindo-se a região interdigital e as unhas dos pés. (16)

3.3.3 Bactérias

Enquanto que as comunidades de fungos são agrupadas por localização corporal, as comunidades de bactérias agrupam-se pela fisiologia da pele, ou seja, locais secos, húmidos e sebáceos. (16)

Locais oleosos são, por exemplo, testa, nariz e região entre sobrancelhas (também designada “zona T”) na face; zona interna da orelha, peito e costas. Locais húmidos consideram-se a axila, cotovelo interno, zona interdigital, virilhas, zona posterior do joelho, palma do pé, umbigo. Por fim, como regiões secas apresentam-se: o cotovelo, o antebraço, as palmas das mãos e as nádegas. (2)

A diversidade bacteriana é inferior nas zonas sebáceas, parecendo haver uma certa seleção do tipo de microrganismos que crescem e sobrevivem nesses locais, sendo

poucos os que toleram as condições aí presentes. Nestes, as bactérias predominantes são do género *Propionibacterium*.

Nas zonas húmidas os principais géneros encontrados foram *Staphylococcus* e *Corynebacterium*, estando estes também presentes, de modo menos significativo, nas regiões sebáceas.

As regiões consideradas secas são as que apresentam maior diversidade, estando presentes espécies dos quatro filos diferentes. Nestas zonas, tomam principal destaque *Proteobactérias* e *Bacteroidetes* (Figura 4).

Curiosamente, através dos estudos realizados para conhecimento e identificação do microbiota da pele, foi descoberto que havia uma maior percentagem de organismos gram-negativos a habitar a superfície da pele humana do que se imaginava, sendo estes característicos do trato gastrointestinal. (3,4,9)

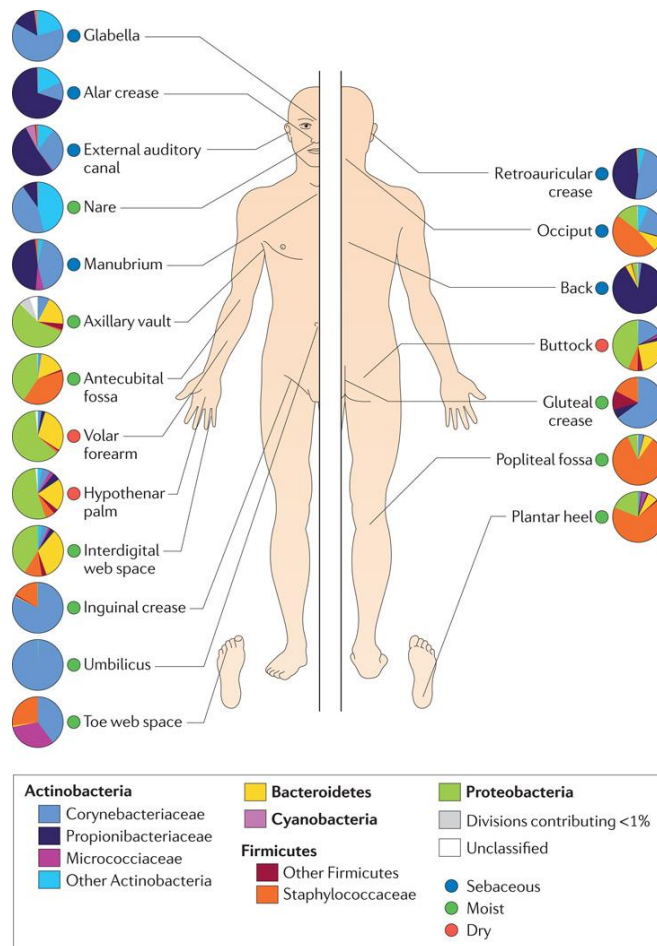


Figura 4 – Distribuição topográfica de bactérias nos diferentes locais da pele. Retirado de (4)

3.4 Estabilidade do Microbiota

Como mencionado anteriormente, nas 24 horas após o nascimento, o microbiota da pele parece depender do tipo de parto que é realizado. Mas, a verdade é que, após 6 semanas, os padrões de variação da comunidade microbiana da pele demonstraram estar mais intimamente relacionados com as diferentes zonas do corpo e as características inerentes a estas.

Por conseguinte, este facto indicia que haja uma tendência para o microbiota da pele atingir uma certa estabilidade, sendo que, colocou-se a hipótese de que o desenvolvimento do mesmo é mais influenciado pelos microrganismos presentes na placenta do que pelo tipo de parto. (18,19)

Assim, a composição do microbiota da pele, apesar de complexa, tem demonstrado ser estável ao longo do tempo em indivíduos saudáveis pois, apesar de existirem pequenas alterações na constituição das comunidades microbiológicas, algumas espécies são substituídas por outras semelhantes, preservando assim, as características fisiológicas do meio onde se encontram.

Ainda assim, a estabilidade da composição do microbiota varia de indivíduo para indivíduo e consoante o local do corpo que é analisado, existindo regiões do corpo mais suscetíveis a agressões e perturbações externas, o que, por sua vez, influencia o microbiota da pele e, conseqüentemente, leva a que este seja menos estável ao longo do tempo nessas zonas. (5)

A idade é também um fator preponderante na variabilidade do microbiota, sendo mais diverso com o aumento da mesma. (9,20)

Num estudo feito acerca da estabilidade do microbiota da pele, concluiu-se que as zonas que menos sofrem alterações são: a zona interna da orelha e do nariz. As que sofrem mais alterações, sendo consideradas menos estáveis são: a região posterior do joelho e dos pés. (2,7)

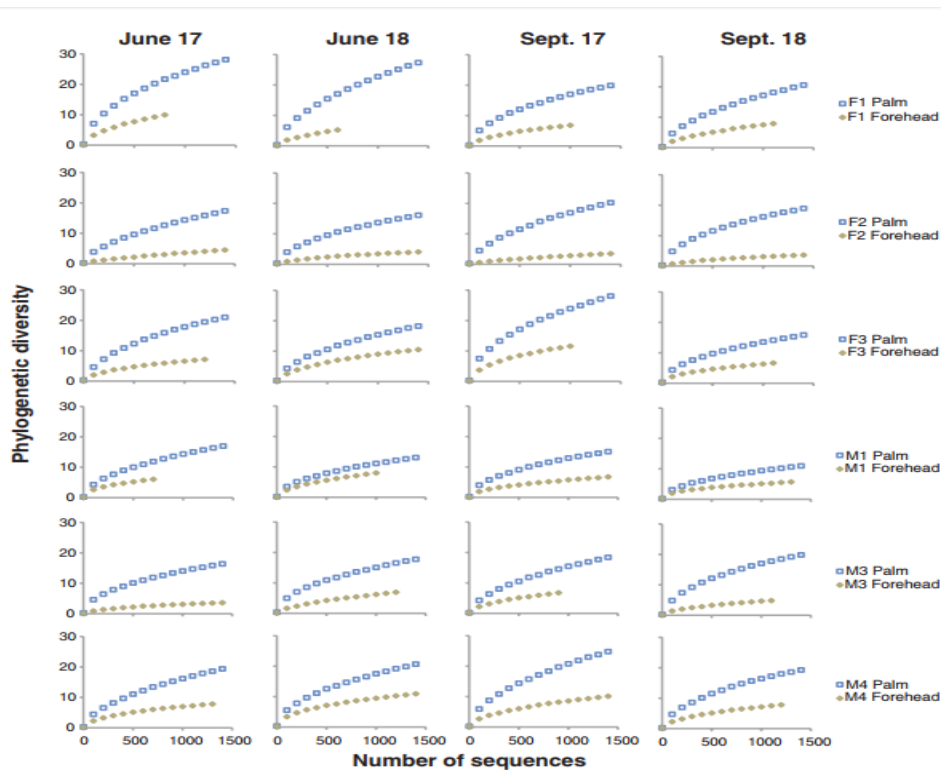


Figura 5 – Curvas de rarefação individuais para as palmas das mãos e testa.
Retirado de (21)

Um estudo distinto revelou que a estabilidade do microbiota da pele, com o passar do tempo, apresenta uma maior variabilidade interpessoal do que intrapessoal, ou seja, o microbiota apresenta-se mais estável no mesmo indivíduo, nos diferentes locais do corpo, do que, entre indivíduos. (Figura 5). (21) Esta evidência demonstra assim que o microbiota contribui ativamente para o fenótipo de cada indivíduo. (10)

3.5 Interação do Microbiota com a Pele

Estando os microrganismos sobre a pele, é de esperar que estes interajam com as células da mesma de diferentes modos (Tabela 1). Estes, estabelecem uma relação de comensalismo, ou seja, benéfica para pelo menos uma das partes, sem prejudicar a outra.

Tabela 1 – Potenciais interações entre as células da pele humanas e o microbiota.
Adaptado de (10)

De que modo o microbiota da pele pode afetar as células humanas da pele:
- Proteases poderão afectar a descamação do estrato córneo
- Lipases quebram os lípidos da superfície da pele

- Podem providenciar antígenos para as células imunitárias da pele
- Ajudam na defesa de potenciais agentes patogénicos
De que modo as células humanas da pele afetam o microbiota da pele:
- Providenciam nutrientes
- Controlam o seu crescimento através da imunidade inata (péptidos antimicrobianos, produção lipídica, pH da pele)
- Controlam o potencial patológico pela formação de uma barreira física
- Controlam a composição das populações microbiológicas pela criação de microambientes (secos, húmidos e sebosos)
De que modo as rotinas/produtos de cuidado de pele afetam o microbiota:
- Tensioativos nos produtos de limpeza podem interagir com as membranas microbianas
- Hidratantes poderão alterar os microambientes da pele podendo levar à modificação da constituição microbiana
- Cremes barreira poderão fortalecer a superfície da pele evitando a penetração microbiana

Durante toda a vida, mas essencialmente nos primeiros anos após o nascimento, o microbiota assume um papel fundamental na estimulação e maturação do sistema imunitário através do contacto dos microrganismos com as células imunitárias. (10)

O epitélio deteta os microrganismos a partir dos *Toll-like receptors* que, por sua vez, estimulam a expressão de diferentes genes envolvidos na ativação de diversas respostas inflamatórias.

Tomando como exemplo a bactéria *S. epidermidis*, esta modula a inflamação, induz a expressão de péptidos endógenos antimicrobianos pelos queratinócitos e ainda, controla e modula as funções dos linfócitos T. (3)

As bactérias dos géneros *Propionibacteria* e *Staphylococcus* produzem lipases que quebram ligações nos triglicéridos do sebo dando origem a ácidos gordos livres que, diminuem o pH da superfície pele dificultando a colonização por parte de outros microrganismos. (22,23)

Para além disto, algumas bactérias produzem substâncias bioativas que têm efeitos diretos na função barreira da pele. Por exemplo, o ácido láctico, molécula comumente encontrada no estrato córneo da pele que estimula a proliferação dos queratinócitos, tem uma ação tampão do pH e, é humectante, evitando a perda de água da pele, mantendo-a hidratada. Para além deste, sintetizam também o ácido propanóico (inibe

o crescimento microbiológico sendo utilizado na indústria alimentar) e aminas vasoativas (histamina e triptamina – envolvidas na resposta imunológica).

A síntese, por parte de bactérias como a *Streptococcus thermophilus*, de ceramidas, resulta num fortalecimento da barreira da pele pois, trata-se de um dos principais constituintes lipídicos do estrato córneo essencial à eficácia dessa tão importante função dermatológica. (10,24)

Para finalizar, foi descoberto que *Streptococcus pyrogenes* tem um papel protetor pois, secreta toxinas formadoras de poros que promovem a cura de feridas e, *Aerobacillus spp* tem a habilidade de produzir polissacáridos que, podem fomentar o crescimento que algumas bactérias. (25)

4 Impacto do Microbiota na Saúde da Pele

A presença de microrganismos na pele sempre foi aceite pela sociedade, mesmo antes de existirem dados científicos que suportassem essa ideia pois, acreditava-se que esta faria parte da defesa natural do organismo, ajudando a protegê-lo de microrganismos patogénicos.

Seria de esperar que o contacto com elevadas concentrações dos mais variados microrganismos desencadeasse um número bastante superior de infeções, o que, não se verifica. Este paradoxo despoletou o interesse por parte dos cientistas levando a um aumento dos estudos feitos ao microbiota e saúde da pele, tentando-se estabelecer uma relação entre ambos.

Os microrganismos residentes previnem a colonização por agentes patogénicos de diferentes modos: competindo, com estes últimos, por locais de fixação e nutrientes essenciais, o que dificulta a sua permanência e estabilidade evitando infeções; produzindo peróxidos e substâncias bactericidas que matam e evitam o crescimento de outras bactérias; estimulando as células epiteliais a produzir péptidos antimicrobianos que inibem o crescimento de microrganismos. Por fim, também o crescimento de determinados microrganismos na pele que leva à diminuição do pH da mesma torna-se útil, na medida em que, dificulta o crescimento de outros microrganismos patogénicos. (23) Este crescimento é rápido, acompanhado por uma evolução igualmente rápida, tendo um papel fundamental na resposta do individuo a mudanças de ambiente. (3)

Assim, acredita-se que a interação estabelecida entre os indivíduos e os seus microrganismos residentes é dinâmica e geralmente benéfica, ajudando a estimular o sistema imunitário da pele. (23) No fundo, na base de uma pele saudável está o equilíbrio e a homeostasia entre múltiplos seres vivos, as suas necessidades e características, estando as doenças da pele atualmente associadas à ausência de microrganismos comensais e não apenas à presença de um agente patogénico, como anteriormente se julgava. (10)

Este facto torna-se evidente quando, na sociedade de hoje em dia, são cada vez menores os problemas de pele associados à falta de higiene, por exemplo, e mais controladas as doenças que surgem por presença de um microrganismo patogénico. Mas, no entanto, doenças de pele como a dermatite atópica, a psoríase, a acne juvenil e tardia, apresentam um aumento do número de casos nos últimos anos, maioritariamente nos países desenvolvidos. Isto poderá dever-se a um excesso de

limpeza e desinfecção que acontece com maior frequência nesse tipo de países. (26–31)

Em suma, a estabilidade do microbiota e integridade da função barreira da pele, determinam o aparecimento de determinados problemas e doenças de pele, os quais irão ser abordados de seguida.

4.1 Acne

A acne é uma doença inflamatória crónica do folículo pilosebáceo, é a doença de pele mais comum, estando comumente relacionada com a faixa etária da adolescência.

O seu mecanismo fisiopatológico envolve alterações no processo de queratinização, desencadeamento do processo inflamatório, aumento da produção de sebo induzida por androgénios e ainda, disbiose (desequilíbrio no microbiota) na pele.

Embora a etiologia da doença e o seu mecanismo fisiopatológico não serem ainda claros, o envolvimento microbiano é considerado um dos fatores principais que contribuem para o desenvolvimento da acne. (32) Neste caso, a bactéria normalmente associada é a *Propionibacterium acnes* que coloniza os folículos sebáceos, estando provida de um ambiente anaeróbio rico em lípidos, essencial ao seu crescimento. (3) Esta colonização leva à ativação do processo inflamatório resultando nos diferentes sinais e sintomas da doença.

É importante mencionar que a presença de *Propionibacterium acnes* é igualmente comum em indivíduos com pele saudável e com acne (Figura 6) mas, analisando a presença de diferentes estirpes da bactéria nos folículos pilosebáceos nesses indivíduos, a diferença é notória.

Assim, verificou-se que os indivíduos com uma pele saudável não apresentavam as mesmas estirpes que os indivíduos com acne. Nestes últimos, a diversidade das estirpes é bastante superior, existindo estirpes comuns aos indivíduos de pele saudável, mas, de modo mais abundante, e ainda estirpes que apenas foram detetadas aquando a doença (Figura 7). (32)

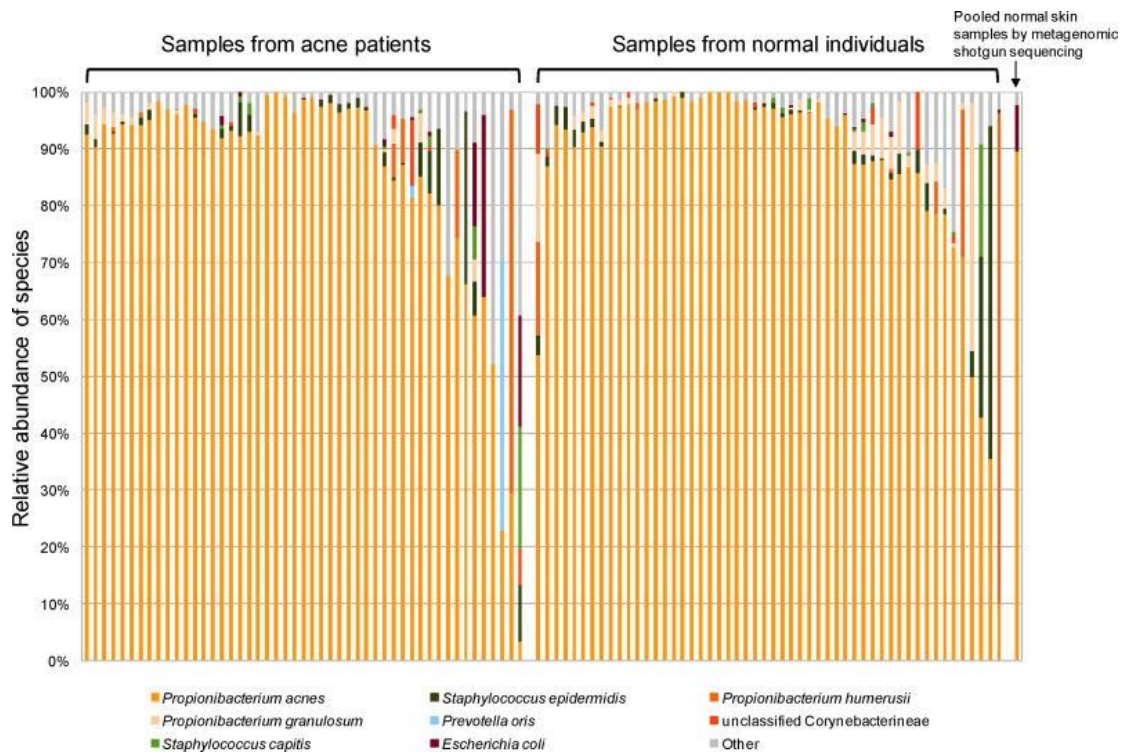


Figura 6 – Abundância relativa de diferentes bactérias no nariz de peles normais e peles acneicas. Retirado de (32)

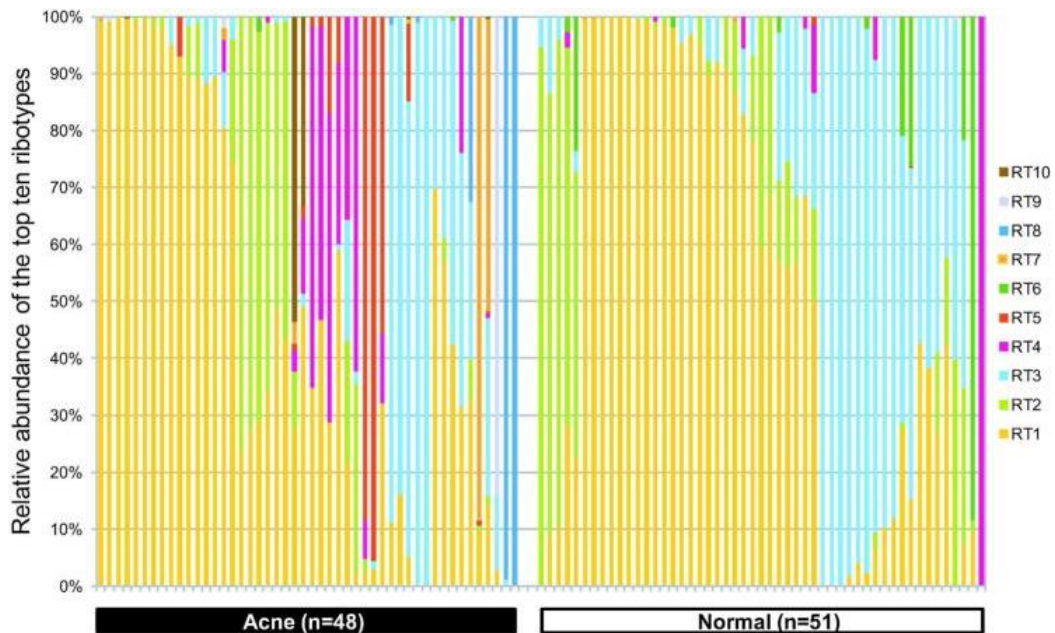


Figura 7 – Distribuição das 10 estirpes de *P.acnes* mais abundantes em indivíduos com pele normal e pele acneica. Retirado de (32)

Outro facto interessante é a presença exclusiva de *Propionibacterium acnes* nos folículos de uma pele saudável enquanto que numa pele acneica, os folículos nas

zonas lesadas, são revestidos por *Propionibacterium acnes*, na sua maioria, em combinação com *Staphylococcus epidermidis* e *Corynebacterium spp.* Esta diversidade poderá estar também relacionada com a doença mas, ainda não se sabe de que modo, daí que sejam necessários estudos posteriores que tentem estabelecer essa relação e ainda compreender o comportamento da *P. acnes* nas comunidades bacterianas. (9,33)

Também a alimentação tem um papel relevante no aparecimento e desenvolvimento da doença. Por exemplo, recentemente foi descoberto que a suplementação com vitamina B₁₂ modula o transcriptoma (conjunto de RNA transcrito) do microbiota da pele na patogénese da acne. (34)

Outra evidência é o registo de um maior número de casos de acne nas regiões do mundo onde se pratica uma dieta ocidental. Dieta esta caracterizada por um grande consumo de açúcares e gorduras que, por sua vez, estimulam a lipogénese sebácea e modificam a composição nutricional no folículo pilossebáceo (passam a ser sintetizados ácidos gordos pro-inflamatórios e comedogénicos ao invés de ácidos gordos de cadeia curta, normalmente produzidos por *P.acnes*, que têm uma função antimicrobiana e ajudam a manter o pH da pele baixo).(31)

Estas alterações metabólicas têm uma importância acentuada na formação de biofilmes e no crescimento exacerbado de *Propionibacterium acnes* culminando em inflamação. (35,36)

4.2 Psoríase

A psoríase é uma doença inflamatória crónica da pele, afeta cerca de 2% da população mundial e a sua etiologia é ainda fracamente compreendida, sabendo-se que resulta de fatores genéticos e ambientais. É caracterizada pela hiperqueratinização, hiperproliferação dos queratinócitos, infiltração da pele por células imunitárias e angiogénese (crescimento de novos vasos sanguíneos). (3)

A nível do microbiota, o filo *Firmicutes* está fortemente presente nos indivíduos com a doença ao contrário dos indivíduos com a pele saudável, o mesmo acontece com o filo *Proteobacteria*. Pelo contrário, o filo *Actinobacteria* é predominante nos casos de pele saudável e pouco evidente em peles com psoríase. Assim, verificou-se um aumento do número de bactérias do género *Staphylococcus* e *Streptococcus* (do filo *Firmicutes*) e uma redução do número de bactérias do género *Propionibacterium* (do

filo *Actinobacteria*), mais concretamente a espécie *Propionibacterium acnes*, em indivíduos com psoríase quando comparados com indivíduos de pele saudável. (33,37)

Esta redução de *Propionibacterium* pode levar a uma diminuição da tolerância imunitária pois, este género é um produtor prolífico de ácidos gordos de cadeia curta que, por sua vez, modulam o sistema imunitário.

Estudos recentes demonstraram ainda o aumento da presença de ADN do vírus do papiloma humano (vírus comum na superfície da pele (38)) e que o microbiota do trato gastrointestinal se encontra modificado nos indivíduos com psoríase. Diferentes espécies de *Malassezia* poderão também contribuir para o desenvolvimento da doença tendo-se verificado a existência de *Malassezia furfur* apenas em peles psoriáticas quando comparadas com pele saudável. (39)

Apesar de haver alterações no microbiota, ainda não se sabe se estas são consequência da doença ou se contribuem para a etiologia e patogenicidade da mesma. (3)

4.3 Rosácea

A rosácea é uma doença de pele de carácter inflamatório crónico, afeta maioritariamente indivíduos com idade superior a trinta anos e manifesta-se através: do aparecimento de vermelhidão no rosto que persiste; pápulas e pústulas; telangiectasias (dilatação dos pequenos vasos) e, placas e nódulos inflamatórios nos casos mais graves. Nos homens, quando em estados avançados, pode surgir o que se designa por rinofima (aumento do volume do nariz pela inflamação exacerbada dos vasos). (40)

Sabe-se que na rosácea a presença de *Demodex mites* nos folículos pilossebáceos está significativamente aumentada comparativamente a uma pele saudável, estando a inflamação da pele correlacionada com a densidade de ácaros nos indivíduos com rosácea. (41) Estes, podem contribuir para a exacerbação da doença, perturbando a função de barreira da pele, e ainda, ativando as proteínas *toll-like receptors* (têm um papel fundamental no reconhecimento de antígenos e ativação do sistema imunitário) através da quitina presente na cutícula do inseto. (3)

Foi descrito que, no mecanismo fisiopatológico da rosácea, está envolvida uma desregulação do sistema imunitário havendo alteração na expressão das proteínas

toll-like receptors, aumento da serina protéase KLK5 (calicreína 5) e ainda expressão anormal da catelicidina LL-37 (péptido antimicrobiano). Estes elementos respondem à composição do microbiota e influenciam-na, sendo lógico especular-se que os microrganismos da pele têm um papel preponderante nesta doença, uma vez que, em condições normais os mesmos ativam o sistema imunitário, mas não promovem a inflamação. (3,40,42)

Pressupõe-se que haja uma modificação genética no hospedeiro que altera as características ecológicas da pele resultando, conseqüentemente, numa mudança do microbiota. Deste modo, microrganismos como os *Demodex mites* poderão tirar partido destas alterações, desencadeando uma resposta que aumenta a suscetibilidade da pele para outros fatores que promovem a inflamação, tais como, a exposição à radiação ultravioleta, consumo de álcool e desregulações hormonais.

Também é possível que modificações, dependentes da idade, na expressão de TLR, tenham um papel importante na progressão da doença visto afetar indivíduos de uma certa idade. (3)

4.4 Dermatite Seborreica

A dermatite seborreica é, tal como as outras doenças acima mencionadas, uma doença inflamatória crónica da pele cuja etiologia é ainda ambígua.

Do seu mecanismo fisiopatológico consta o aumento dos lípidos cutâneos que resultam do desenvolvimento das glândulas sebáceas mediado por androgénios e, secreção de sebo. (3)

É caracterizada pelo aparecimento de placas eritematosas e descamação oleosa do couro cabeludo. Consoante a gravidade da doença esta pode designar-se pelo termo vulgar “casma” ou, quando em estados mais avançados, dermatite seborreica. (43)

A nível do microbiota, a doença é comumente relacionada com as espécies *Malassezia restricta* e *Malassezia globosa*, leveduras que secretam lípases que transformam triglicéridos em ácidos gordos irritantes que podem induzir a hiperproliferação, descamação e libertam ainda ácido araquidónico que, por sua vez está envolvido no processo de inflamação. Esta evidência é suportada pelo facto de os sintomas da doença melhorarem com a aplicação tópica e local de antifúngicos mas, controversa, uma vez que, estes fungos estão presentes numa pele saudável sendo patogénicos apenas para um número de indivíduos.

Estudos recentes demonstraram que a origem da doença poderá não ser apenas micológica, mas também bacteriológica. Nestes, observou-se uma maior incidência de *Staphylococcus spp.* e *Malassezia restricta* nos indivíduos com dermatite seborreica e maior incidência de *Propionibacterium spp.* e *Malassezia globosa* nos indivíduos com o couro cabeludo normal. Observou-se também maior diversidade nas comunidades fúngicas e bacteriológicas da caspa comparativamente à pele saudável, tendo sido revelada a presença de potenciais novas espécies de *Malassezia* que poderão estar envolvidas na fisiopatologia da dermatite seborreica.

Por fim, foi colocada a hipótese de que alguns dos sintomas da doença estejam mais relacionados com as populações bacterianas do que fúngicas sendo estes fortemente influenciados pela integridade da função barreira da pele e ainda pelos níveis de sebo e hidratação da mesma. (43,44)

4.5 Dermatite Atópica

A dermatite atópica é uma doença inflamatória crônica da pele cuja prevalência está a aumentar nos países desenvolvidos, chegando a duplicar ou até triplicar nas últimas três décadas. (9,45)

Suspeita-se que este aumento tenha origem num excesso de higienização e desinfecção praticadas nesses países resultando numa deficiente educação do sistema imunitário.

Tanto fatores genéticos como ambientais demonstram ser bastante importantes para a progressão da doença sendo que, a alimentação e exposição a alérgenos contribuem para a severidade e agravamento da doença.

Análises genéticas revelaram que existem alterações na expressão de genes nos doentes com dermatite atópica, nomeadamente mutações nos genes que codificam a filagrina (proteína essencial à formação do estrato córneo e manutenção da integridade da função barreira da pele – liga-se às fibras de queratina no epitélio da pele, regulando os lípidos e ajudando a manter a hidratação)(46), nos genes envolvidos nas *tight junctions* (junções entre as membranas laterais das células) e ainda no inibidor da serina protéase Kazal-type 5.

A nível do microbiota o aumento do número de bactérias do género *Staphylococcus* (Tabela 2), em particular *Staphylococcus aureus* (colonização de 80-100% nos casos de atopia e 5-20% em pele saudável), foi notório e descrito por inúmeros estudos que,

revelaram ainda, a diminuição do número de bactérias de outros gêneros. Há assim um desequilíbrio na diversidade do microbiota estando a severidade da doença correlacionada com a concentração de *Staphylococcus aureus* presente, sendo mais grave quanto maior pois, este tipo de bactéria secreta fatores de virulência que contribuem para esse aumento de severidade (Tabela 3).

Tabela 2 – Alterações na diversidade microbiana da pele normal vs. pele com dermatite atópica. Adaptado de (47)

Pele Normal	Pele atópica
Filo Actinobacteria:	Abundância relativa diminuída
- <i>Corynebacterium</i>	
- <i>Propionibacterium</i>	
- <i>Rothia</i>	
- <i>Actinomyces</i>	
Filo Bacteroidetes	Sem alterações
- <i>Prevotella</i>	
Filo Proteobacteria	Abundância relativa diminuída
- <i>Alphaproteobacteria</i>	
- <i>Betaproteobacteria</i>	
- <i>Gammaproteobacteria</i>	
Filo Firmicutes	Abundância relativa diminuída de: - <i>Streptococcus</i> e <i>Granulicatella</i> Abundância relativa e absoluta aumentada de: - <i>Staphylococcus</i>
- <i>Streptococcus</i>	
- <i>Staphylococcus</i>	
- <i>Granulicatella</i>	

Tabela 3 – Mecanismos de severidade da dermatite atópica mediados por *S.aureus*.

Adaptado de (47)

Fatores patológicos	Mecanismos que levam ao aumento de severidade da dermatite atópica
Superantigénios (enterotoxinas A e B; Toxina do síndrome de choque tóxico)	Ativação não específica das células T; Estimulação da produção de citocinas por parte dos queratinócitos
α -Toxina	Produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α); Lise dos queratinócitos
δ -Toxina	Desgranulação dos mastócitos; Inflamação
Toxinas esfoliativas A e B	Clivagem do gene que codifica para a desmogleína levando a um aumento de descamação e inflamação da pele

Proteína A	Produção de TNF- α pelos queratinócitos
Modulinas solúveis em fenol	Inflamação dos queratinócitos

Este aumento de *S.aureus* pode estar favorecido pela perda da função barreira da pele pois, o conseqüente aumento do pH torna o ambiente favorável ao crescimento da bactéria.

Mutações nas citocinas IL-4 e IL-13 dos linfócitos T *helpers* 2 foram também correlacionados com a doença, estas levam a uma diminuição da expressão de adenosina monofosfato (AMP) que, por sua vez, tem capacidade de matar *S.aureus*.

Tal como na rosácea, há um aumento da atividade das serinas protéases KKL que, julga-se serem responsáveis pela descamação da pele, pelo processamento alterado da catelicidina e filagrina, pelo aumento da PAR-2 (*protease activated receptor* – importantes no processo inflamatório e na sensação de dor) e inflamação.

Os tratamentos mais efetivos para a doença estão associados a um aumento da diversidade microbiana ao invés da diminuição exclusiva de *S.aureus*, indicando que os tratamentos que promovem a diversidade microbiológica promovem, igualmente, melhorias na doença. Os banhos de lixívia diluída têm-se demonstrado eficazes em associação a corticosteroides e alguns antibióticos. (3,47,48)

5 . Evolução da Indústria Cosmética

O uso de cosméticos conta já com milhares de anos de história. Junto do sexo feminino, essencialmente, o cuidado da pele sempre esteve presente e a contínua necessidade de obtenção de uma pele e aspeto perfeitos é o que, até aos dias de hoje, movimenta o mercado dos produtos cosméticos. (49)

O ser humano sempre procurou melhorar-se, encontrando nos cosméticos um método de aperfeiçoamento do seu aspeto exterior que procura transmitir saúde e beleza, e melhora a sua autoestima.

Com isto, nas últimas décadas o mercado dos cosméticos tem crescido exponencialmente. Desde a descoberta de novas moléculas, que a cada dia que passa são mais estáveis, mais eficazes e mais seguras; a novas formulações que tentam ir de encontro às necessidades de cada tipo de pele, esperando proporcionar conforto e bem-estar aquando sua utilização.

Inicialmente primava-se pela integridade da epiderme e estrato córneo, os cosméticos seriam inócuos e apenas atuavam nas camadas mais externas da pele.

Nos últimos anos, com a crescente preocupação pela sustentabilidade ambiental, numa sociedade cada vez mais crítica, consciente e ecológica; os cosméticos testados em animais passaram a ser proibidos e, a procura por cosméticos naturais aumentou significativamente, culminando num novo nicho de mercado que são os produtos cosméticos à base de plantas e óleos essenciais extraídos da natureza, sendo por isso, não poluentes.

Atualmente, as atenções estão voltadas para a superfície da mesma e para os seres vivos que nela residem passando a maior preocupação da industria cosmética a ser a preservação dos microrganismos que colonizam a pele pelos seus benefícios na saúde da mesma.

O microbiota da pele passa assim a ser o novo foco de algumas empresas de cosméticos pela demonstração do seu potencial inovador e aumento de eficácia no combate às, cada vez mais prevalentes, doenças de pele.

6 Impacto do Uso de Produtos Cosméticos no Microbiota da Pele

Num estudo realizado recentemente, em Agosto de 2016, em França, que pretendeu testar algumas técnicas de análise do microbioma da pele, concluiu-se que a aplicação de cosméticos tem impacto na estabilidade do microbiota e, conseqüentemente na integridade das funções da pele.

O estudo consistiu na avaliação da pele da testa de uma mulher adulta onde, do lado direito aplicou um cosmético contendo um extrato da planta *Haberlea rhodopensis* e, do lado esquerdo aplicou um placebo, durante 28 dias utilizando luvas. Como resultado observou-se uma ligeira alteração nas principais espécies que colonizam essa zona do corpo mas, a maior alteração foi observada nas espécies minoritárias. Ainda assim, apesar de se ter demonstrado haver impacto no microbiota com a aplicação do cosmético este, a longo prazo, reestabelece-se, retomando a sua constituição inicial (Figura 8).



Figura 8 – Evolução ao longo do tempo (D – dia) da abundância relativa de bactérias após aplicação de um cosmético contendo um extrato da planta *Haberlea rhodopensis* (lado direito) e de um placebo (lado esquerdo). Adaptado de (50)

Para obtenção de dados mais fidedignos será, certamente, necessária a realização de uma quantidade superior de estudos semelhantes que tenham uma amostra mais ampla, constituída por diferentes indivíduos com diferentes tipos de pele.

Ainda assim, o estudo demonstrou-se útil no reconhecimento das ferramentas mais eficazes na avaliação do microbioma ao longo do tempo, tendo a análise da sequência genómica do RNA ribossomal 16S demonstrado ser a técnica a adotar para esse tipo de avaliação. (50)

Outro indicador que poderá ser utilizado para determinar o impacto dos produtos cosméticos na comunidade microbiológica da pele é a expressão de histonas deacetilases (HDACs - classe de enzimas que ajuda na manutenção da saúde da pele através do balanço nos processos de acetilação das histonas acetiltransferases na remodelação da cromatina, tendo um papel fundamental na regulação da transcrição de genes e, conseqüentemente, modula processos fisiológicos como o mecanismo de inflamação). (22)

Quando as enzimas funcionam corretamente, a comunidade microbiana da pele mantém-se intacta através da preservação da função barreira da pele. (51)

Estas enzimas demonstraram ainda ter diversas funções quer em processos metabólicos como inflamatórios, mais concretamente um tipo específico – HDAC3 – altamente expresso nos queratinócitos humanos, acabando por estarem envolvidas na diferenciação das células da epiderme e, a sua expressão pode estar evolvida no aparecimento de doenças da pele de carácter inflamatório como a psoríase ou a dermatite atópica. (22)

Através de um estudo *in vivo* publicado pela revista *Nature*, em 2013, concluiu-se que quando a expressão desta enzima se encontra reduzida, algumas espécies bacterianas tornaram-se sobrepopoadas e existe uma perda da função barreira da pele culminando em inflamação. (52)

Noutro estudo publicado pelo *Journal of Biological Chemistry*, em 2012, investigaram-se as enzimas HDAC e o seu envolvimento na resposta inflamatória protetora e percebeu-se que estas também têm um papel importante na resposta alérgica sendo que, poderiam ser um alvo para o desenvolvimento terapêutico de antialérgicos reduzindo também a inflamação, algo cuja indústria cosmética procura aquando o desenvolvimento galénico de um produto. (53)

Mais recentemente, e com enorme potencial futuro, está a ser desenvolvido um modelo tridimensional que pretende replicar a pele humana de modo a que os testes dermatológicos sejam cada vez mais rigorosos e fidedignos. Este modelo surge pela necessidade crescente de se avaliar o impacto dos cosméticos na homeostasia do microbiota da pele. Deste modo, será possível aprofundar conhecimentos relativos aos mecanismos da pele aquando o desenvolvimento e teste de novos ingredientes bioactivos para a formulação de produtos de cuidado de pele. (54–56)

6.1 Modificação do Microbiota pelo uso de produtos cosméticos

6.1.1 Conservantes

Durante a formulação de um cosmético, um dos pontos mais críticos é garantir estabilidade do mesmo, tentando manter as suas propriedades inatas durante o maior período de tempo possível.

Deste modo, com a evolução dos cosméticos tornou-se imperativa a utilização de agentes capazes de garantir a sua conservação de modo eficaz pois, grande parte dos cosméticos detêm características favoráveis ao crescimento microbiano, afetando, não só a estabilidade da formulação, mas, mais importante ainda, a segurança para o consumidor. (22)

Atualmente, a sociedade preza pela segurança, por vezes, de modo excessivo. Segundo a “*hygiene hypothesis*”, esta necessidade de eliminação de microrganismos de modo descontrolado poderá levar à fragilização e aumento de vulnerabilidade do sistema imunitário (por falta de estimulação do mesmo) que, por sua vez, poderá desencadear no aparecimento de doenças como as autoimunes; as de carácter alérgico, como a asma e, claro, doenças da pele. (10,28,57)

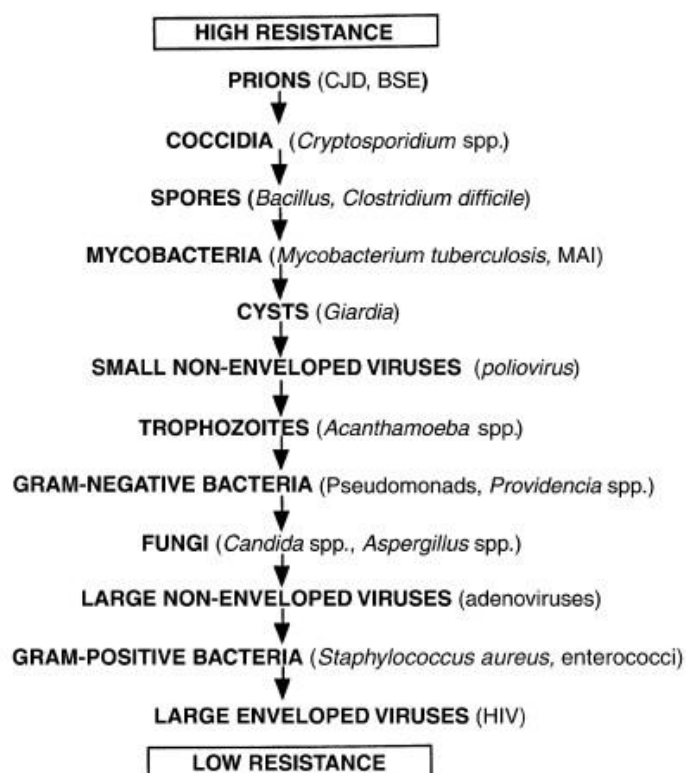
De facto, tem sido reportado um aumento do número de casos de doenças inflamatórias crónicas (28), sendo um exemplo disso a dermatite atópica, essencialmente na faixa etária mais jovem. (58)

Mesmo sem se conseguir provar com evidências científicas concretas que esta hipótese é a causa principal de doenças inflamatórias crónicas e autoimunes, vários estudos acabaram por chegar a uma conclusão comum. A preservação do microbiota natural da pele, e dos restantes órgãos, está na base da manutenção de um organismo saudável. (28,57)

Por conseguinte, torna-se essencial ter presente em mente a existência de um microbiota da pele, natural e protetor, aquando a escolha de um conservante no desenvolvimento galénico de um cosmético pois, necessitamos de manter a estabilidade deste último e, ao mesmo tempo, de evitar destruir as defesas naturais da pele.

Assim, há disponível material de apoio à escolha do conservante mais adequado. Existe, por exemplo, uma tabela (Tabela 4) que organiza os diferentes microrganismos de acordo com a sua suscetibilidade aos conservantes, na qual está descrito que a bactéria *Staphylococcus aureus* tem uma baixa resistência a agentes antimicrobianos sendo a sua eliminação mais fácil enquanto que, por outro lado, a bactéria gram-negativa *Providencis* apresenta uma resistência superior sendo a sua eliminação e inibição de crescimento mais difíceis.

Tabela 4 – Classificação dos microrganismos de acordo com a sua sensibilidade aos conservantes. Retirado de (59)



Tomando como exemplo o triclosan, este é um agente antimicrobiano utilizado a nível mundial, estando presente em vários cosméticos e, tem um amplo espectro de ação (Tabela 5) mas, atua de forma inespecífica (por disrupção da parede celular microbiana), ou seja, elimina quer os microrganismos patogénicos quer os comensais.

Leva, assim, a uma perturbação no equilíbrio do microbiota da pele, deixando-a suscetível a microrganismos oportunistas. (60,61)

Tabela 5 – Atividade antimicrobiana do triclosan. Retirado de (60)

Microorganism	Source	Percent kill		MIC
		15 s	30 s	Handwash (10,000 ppm)
Bacterial strains				
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	ATCC 15309	>99.99	>99.99	5000
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285	>99.99	>99.99	4.88
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416	87.37	95.46	5000
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	ATCC 43734	>99.99	>99.99	9.77
<i>Clostridium difficile</i> *	ATCC 9689	99.9998%	99.9998%	6.51
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	92.04	96.86	5000
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	98.46	99.08	0.81
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 19434	>99.99	>99.99	9.77
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	>99.99	>99.99	4.88
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433	>99.99	>99.99	6.51
<i>Enterococcus faecalis</i>	Clinical	>99.99	>99.99	9.79
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11229	>99.99	>99.99	0.31
<i>Escherichia coli</i>	Clinical	>99.99	>99.99	1.22
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	>99.99	>99.99	0.61
<i>Escherichia coli</i>	Clinical	>99.99	>99.99	0.61
<i>Escherichia coli</i> (O157, H7)*	Clinical	99.9999%	99.9999%	n/a
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 19418	>99.99	>99.99	0.31
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC 43165	99.01	99.88	2.44
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 11296	>99.99	>99.99	0.81
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 7468	99.99	99.99	4.88
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	>99.99	>99.99	4.88
<i>Micrococcus luteus</i>	Clinical	99.97	>99.99	5000
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 7002	62.98	98.54	2.44
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	>99.99	>99.99	5000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	>99.99	>99.99	2500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	>99.99	>99.99	2500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Clinical	>99.99	>99.99	5000
<i>Salmonella typhimurium</i> *	ATCC 14028	99.9999%	99.9999%	0.2
<i>Serratia marcescens</i> *	Clinical	90.7173%	99.9089%	n/a
<i>Shigella flexneri</i> *	Clinical	99.9999%	99.9999%	<0.15
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	>99.99	>99.99	0.49
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	>99.99	>99.99	0.15
<i>Staphylococcus aureus</i>	Clinical	>99.99	>99.99	3.26
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	>99.99	>99.99	4.88
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Clinical	97.19	98.92	5000
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Clinical	91.04	99.00	625
<i>Staphylococcus hominis</i>	ATCC 27844	>99.99	>99.99	2500
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ATCC 13637	>99.99	>99.99	2500
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 6303	>99.99	>99.99	1.95
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	>99.97	>99.97	78.13
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Clinical	>99.98	>99.98	78.13
Antibiotic-resistant bacterial strains				
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Clinical	74.58	>99.99	0.61
<i>Bacteroides fragilis</i>	Clinical	99.95	>99.99	3.26
<i>Enterobacter cloacae</i>	Clinical	>99.99	>99.99	0.81
<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	ATCC 51299	>99.99	>99.99	9.77
<i>Enterococcus faecium</i>	Clinical	99.75	>99.99	5000
<i>Enterococcus faecium</i> (VREF)	ATCC 51599	99.80	>99.99	13.02
<i>Haemophilus influenzae</i>	Clinical	>99.99	>99.99	19.53
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MDR)	Clinical	>99.99	>99.99	5000
<i>Staphylococcus aureus</i>	Clinical	>99.99	>99.99	3.26
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	Clinical	>99.99	>99.99	0.61
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Clinical	>99.99	>99.99	9.77
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Clinical	>99.99	>99.99	6.51
Fungal strains				
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 750	73.90	75.79	2500
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	ATCC 14112	89.25	93.00	5000
<i>Epidermophyton floccosum</i>	ATCC 52062	87.39	99.13	1.63
<i>Microsporium audouinii</i>	ATCC 42558	80.31	92.50	2.44
<i>Microsporium canis</i>	ATCC 14055	99.85	99.90	4.88
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	ATCC 26323	64.38	63.56	4.88
<i>Trichophyton rubrum</i>	ATCC 52024	97.40	99.25	2.44
<i>Trichophyton tonsurans</i>	ATCC 28942	52.00	84.00	2.44
Viral strains				
HIV-1	Vanderbilt University	≥99.9	≥99.9	n/a
Herpes simplex virus, type 1	ATCC VR-733	≥99.994	≥99.998	n/a
Herpes simplex virus, type 2	ATCC VR-734	≥99.97	≥99.97	n/a
Influenza, type A	ATCC VR-544	≥99.999	≥99.999	n/a

Como agravante, o triclosan demonstrou ainda estar envolvido no aumento resistência microbiana pelo seu uso continuado em diferentes produtos. Alterações genéticas que providenciam essa resistência nos microrganismos têm sido descritas, estando estas potencialmente relacionadas com concentrações mais elevadas de triclosan (encontradas normalmente em produtos de limpeza e desinfecção). (61,62)

Por este motivo, o triclosan apresenta várias restrições legais (Tabela 5) estando a sua utilização cada vez mais diminuída.

Tabela 6 – Tipos de produtos que podem conter triclosan na sua constituição e respetivas concentrações permitidas na Europa. Adaptado de (63)

Produto	Concentração
Pasta de dentes, sabonetes de mãos, sabonetes de corpo, geles de banho, desodorizantes (exceto aerossóis), pós faciais, corretores de vermelhidão. Produtos de limpeza de unhas.	0,3%
Colutórios	0,2%

Por outro lado, os parabenos, dos mais antigos e mais bem estudados conservantes, demonstram ser eficazes na conservação dos cosméticos, e seguros para o consumidor, mas, hoje em dia, a sua utilização é altamente controlada (as concentrações permitidas são cada vez menores) e tem vindo a diminuir com o aparecimento de conservantes alternativos.

Desconhece-se o impacto que os parabenos têm no microbiota da pele mas, considerando que estes apresentam uma elevada eficiência no que toca a uma conservação eficaz e estável dos cosméticos, ainda há autores que defendem a sua utilização. (64,65)

Assim, os conservantes naturais são cada vez mais estudados e começam a ganhar destaque, demonstrando ser uma opção segura e eficaz. São normalmente ácidos gordos de cadeia curta (com uma extensão de cerca de cinquenta aminoácidos) sintetizados através do processo de fermentação. O filtrado de fermento de raiz de rábano é um exemplo desse tipo de conservantes naturais.

Utilizou-se este conservante natural num estudo, em 2015, que procurava verificar o impacto no microbiota da pele de conservantes naturais versus conservantes sintéticos, como é o caso do triclosan e dos parabenos. Como marcador do ensaio foram utilizadas as histonas deacetilases (HDAC) mencionadas anteriormente.

Os resultados foram surpreendentes na medida em que, o conservante mostrou-se eficaz na sua função conservante, inibindo em 99,95% o crescimento de várias espécies de bactérias (percentagem que é aceite pelo Concelho de Produtos de Cuidados Pessoais) (Tabelas 6 e 7).

Tabela 7 – Resultados da MIC no teste do filtrado de fermento de raiz de rábano. Retirado de (22)

Microorganism	MIC (ppm in final product)	MIC (% in final product)
<i>E. coli</i>	1.56 x 10 ⁴	1.6
<i>S. aureus</i>	3.13 x 10 ⁴	3.1
<i>P. aeruginosa</i>	1.56 x 10 ⁴	1.6
<i>C. albicans</i>	7.81 x 10 ³	0.8
<i>A. niger</i>	7.81 x 10 ³	0.8
<i>Bacillus spp.</i>	6.25 x 10 ³	0.6
<i>Salmonella spp.</i>	6.25 x 10 ³	0.6
<i>Shigella spp.</i>	6.25 x 10 ³	0.6
<i>Vibrio spp.</i>	3.12 x 10 ³	0.3

Tabela 8 – Inibição do crescimento microbiano pelo filtrado de fermento de raiz de rábano. Retirado de (22)

	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B. cepacia</i>
Inoculum level (initial)	2.02E + 06	2.37E + 06	2.33E + 06	9.46E + 05	2.97E + 05	2.79E + 06	1.98E + 06
Day 0	(+1.485%	5.485%	28.755%	39.535%	87.542%	6.810%	>99.999%
Day 1	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	90.404%	>99.999%	>99.999%
Day 2	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	92.256%	>99.999%	>99.999%
Day 3	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	94.108%	>99.999%	>99.999%
Day 7	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	99.663%	>99.999%	>99.999%
Day 14	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	99.663%	>99.999%	>99.999%
Day 21	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	99.789%	>99.999%	>99.999%
Day 28	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	99.987%	>99.999%	>99.999%
Inoculum level (reinoculated)	1.16E + 06	2.57E + 06	2.212E + 06	7.03E + 06	2.48E + 05	1.23E + 06	2.18E + 06
Day 0	50.690%	38.132%	42.453%	37.127%	13.306%	7.317%	>99.999%
Day 1	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	17.339%	>99.999%	>99.999%
Day 2	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	37.500%	>99.999%	>99.999%
Day 3	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	84.879%	>99.999%	>99.999%
Day 7	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	94.758%	>99.999%	>99.999%
Day 14	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	96.371%	>99.999%	>99.999%
Day 21	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	96.371%	>99.999%	>99.999%
Day 28	>99.999%	>99.999%	>99.999%	>99.999%	99.113%	>99.999%	>99.999%

Provou ainda ser o conservante que menos impacto tem no equilíbrio do microbiota, conseguindo preservar a função barreira da pele. Este último facto foi comprovado através de um ensaio de luminescência da enzima HDAC onde, para a mesma concentração de péptido, triclosan e parabenos + fenoxietanol (conservante sintético

comumente utilizado na indústria cosmética) o primeiro demonstrou ser o que menos impacto na atividade das HDAC tinha, resultando numa maior luminescência que, por sua vez se traduz num menor impacto no microbiota. Seguiu-se os parabenos + o fenoxietanol e, por fim, o triclosan, demonstrando ser o mais prejudicial, reduzindo a luminescência de HDAC para metade. (22)

Tendo em conta o seu potencial, outros estudos foram realizados para verificar o impacto que os conservantes naturais, como os péptidos antimicrobianos, têm no microbiota da pele. Para além de terem corroborado o facto do filtrado do fermento da raiz de rábano manter as características microbiológicas da pele, demonstraram ainda que existem outras opções semelhantes. É o caso do extrato de fruta *Lactobacillus & Cocos Nucifera (Coconut)*, obtido pela fermentação do côco por *Lactobacillus*, que aumenta a hidratação da pele (66) e ainda, é eficaz como conservante, sendo capaz de preservar a constituição microbiológica da pele. (25)

Deste modo, os conservantes naturais poderão ser alternativas seguras e eficazes aos conservantes utilizados hoje em dia eliminando os microrganismos oportunistas e patogénicos, não afetando os microrganismos residentes que, já provaram ser essenciais para a saúde dermatológica.

6.1.2 Desodorizantes e Antitranspirantes

A utilização de desodorizantes e antitranspirantes prática bastante frequente no mundo ocidental que poderá ter repercussões na saúde da pele.

Estes, destabilizam o microbiota da pele aquando a sua aplicação, dos quais os antitranspirantes revelaram ter efeitos nefastos mais acentuados que os desodorizantes, havendo um aumento desfavorável da diversidade microbiológica da pele da axila em ambos os casos, mas, com a aplicação de antitranspirantes, esta foi mais significativa. A utilização de alumínio em elevadas concentrações como bloqueador das glândulas sudoríparas pode estar na origem desta diferença.

Um dos impactos observados mais significativos tem que ver com o aumento da presença de *Corynebacterium spp* na zona da axila que, por sua vez, está relacionado com o desenvolvimento de odor corporal.

Em suma, a utilização deste tipo de cosméticos tem um impacto evidente no microbiota da pele que, a longo prazo, pode levar ao efeito contrário ao desejado. Portanto, para uma maior eficácia, os agentes antimicrobianos utilizados nos mesmos

deveriam ser específicos para as espécies que se sabe serem responsáveis pelo mau odor do suor, favorecendo o crescimento de outras espécies necessárias à manutenção do microbiota da pele. (67)

6.1.3 Maquilhagem

O uso de maquilhagem já demonstrou, também, ser um hábito que altera o microbiota da pele. Esta, leva ao aumento da diversidade microbiana dermatológica, tendo-se verificado o aparecimento dos géneros *Selenomonas*, *Aggregatibacter* e *Aquicella* (presente em águas termais) exclusivamente nos indivíduos que utilizavam maquilhagem com regularidade, independentemente do seu tipo de pele.

Num artigo publicado pelo *Journal of Applied Microbiology*, em 2011, para além das evidências acima mencionadas, verificou-se que, quando comparada a composição microbiológica da testa de indivíduos homens com a da testa de mulheres que não utilizavam maquilhagem, a diferença era mínima, reforçando a ideia de que a maquilhagem modifica, de facto, o microbiota da pele. (68)

6.1.4 Álcoois

Na produção cosmética a utilização de álcoois e derivados do álcool sempre foi comum, pelas suas variadíssimas funções como: conservante, solvente (o etanol constitui 98% dos solventes utilizados nos perfumes (69)), adstringente, controladora de viscosidade, entre outras.

Como conservantes, estes atuam pela disrupção da membrana plasmática dos microrganismos, solubilização lipídica e desnaturação proteica interferindo com o metabolismo celular e resultando em lise. Sendo os microrganismos aeróbios, gram-negativos os mais afetados pela sua percentagem de lípidos na constituição da parede celular. (70,71)

Num artigo publicado pela Sociedade Americana para Microbiologia (ASM) estudou-se, *in vivo*, a efetividade de 3 tipos diferentes de álcoois (etanol, isopropanol e n-propanol) na redução dos microrganismos aeróbios da pele, a diferentes concentrações (60%, 70%, 89.5%) e tempos de aplicação (2,3 e 4 minutos), tendo sido aplicados em 4 zonas do corpo distintas (testa, abdómen, zona superior das costas e zona lombar).

Deste teste concluiu-se que, o fator mais importante para um aumento de eficiência, a nível da inibição de crescimento microbiano, é a escolha do tipo de álcool, seguindo-se a sua respetiva concentração e, por fim, tempo de aplicação. O local da pele onde é aplicado também tem uma enorme influência pelas diferentes densidades populacionais que o constituem e o tipo de microrganismos que aloca. Por exemplo, na testa, pela presença acentuada de glândulas sebáceas e microrganismos anaeróbios (como é o caso de *P. acnes*) a redução dos microrganismos pelos 3 tipos de álcoois não foi tão notória. Por outro lado, nos braços, os tipos de colónias bacterianas mais comuns são gram-negativas aeróbias havendo uma maior redução das mesmas aquando a aplicação de produtos contendo álcoois. (72)

Foi ainda demonstrado que os álcoois têm também efeito na redução de crescimento e formação de biofilmes de alguns fungos, nomeadamente *Candida albicans*. (73)

Alguns tipos de álcoois podem ainda estar envolvidos nos mecanismos que desencadeiam irritação a nível da pele, pela interação com os queratinócitos e células epiteliais do estrato córneo. Nestes provocam modificações metabólicas e têm impacto na produção de citocinas, diferenciação celular e ainda na perda de água transepidérmica. (74)

Em suma, podemos concluir que esta classe de compostos orgânicos afeta, sem qualquer dúvida, o microbiota da pele especialmente pela eliminação e inibição de crescimento de alguns microrganismos ao invés de outros. Este facto pode levar a um desequilíbrio na constituição do microbiota nos diferentes locais do corpo podendo, por sua vez, estar na origem do aparecimento de reações dermatológicas indesejadas.

6.1.5 Considerações finais

Tendo em conta que a avaliação do impacto dos cosméticos, e seus constituintes, no microbiota da pele é um tema bastante recente (conta com cerca de 4 anos), poucos estudos foram ainda realizados e os que existem assumem serem necessárias novas avaliações para que os resultados obtidos sejam fidedignos e credíveis.

Ainda assim, formulações como os esfoliantes, quer físicos como químicos, que têm como função a remoção de células mortas da pele de modo a fomentar o crescimento e renovação celular cutâneos, terão, com certeza, impacto no microbiota da pele, pela sua possível remoção.

Também os diferentes tipos de formulações até hoje desenvolvidas poderão ter a sua quota parte de influência na constituição do microbiota nos diferentes locais do corpo. Ora, para uma zona do corpo considerada seca, o normal será aplicar um creme hidratante e rico ao mesmo tempo para contrariar a falta de água e lípidos que caracterizam esse tipo de regiões. Assim, o microambiente é totalmente alterado podendo traduzir-se no crescimento de espécies que, normalmente, não habitariam aquela zona e, ao mesmo tempo, diminuir a presença das espécies comensais comuns de zonas secas.

Até que ponto as formulações cosméticas atuais preservam o microbiota natural é algo que deveria, sem dúvida, ser aprofundado, de modo a que seja compreendido o impacto real que os cosméticos de hoje em dia têm no microbiota da pele e, de que modo, a longo prazo, estes não estarão a comprometer a saúde da pele.

Deste ponto de vista, a indústria cosmética poderá estar a comprometer a integridade da pele e suas funções com o desenvolvimento de cosméticos que tem por base científica o mecanismo patológico das doenças e problemas de pele mas não a sua etiologia.

7 O Futuro da Indústria Cosmética

7.1 Bioengenharia na formulação cosmética

À medida que a tecnologia evolui, os métodos de sequenciação e identificação tornam-se cada vez mais precisos e valiosos, sendo os avanços na síntese do ADN e engenharia genética cada vez melhores. A partir deles, surge a possibilidade de personalizar o genoma microbiológico de modo a tirar o maior partido dos microrganismos levando-os a produzir ingredientes ativos para aplicação cosmética e de cuidados pessoais. Estes processos são cada vez mais rápidos e económicos, culminando num aumento de interesse por parte da indústria cosmética.

A produção biotecnológica de ingredientes cosméticos, para além de se tornar numa fonte mais rentável e sustentável, torna-se também mais confiável sendo possível a produção de produtos com cada vez menos contaminantes. (75)

Esta produção, por sua vez, poderá ser aproveitada para o fabrico de cosméticos contendo os microrganismos geneticamente modificados que produzam substâncias essenciais à saúde da pele e à estabilidade do microbiota da pele.

7.1.1 Produção de Ácido Hialurónico

O ácido hialurónico é uma molécula crucial para a saúde da pele e das cartilagens que, demonstra ter diversas aplicações. Na cosmética é maioritariamente utilizado pelas suas propriedades hidratantes, renovadoras, reparadores e ainda, anti-envelhecimento. (76,77)

Bactérias do género *Streptococcus* conseguem produzir ácido hialurónico a partir de genes que são notavelmente semelhantes aos encontrados nas células animais, permitindo a sua utilização sem seres humanos.

Inoportunamente, o crescimento deste tipo de bactérias em cultura é difícil e dispendioso.

Como alternativa, os genes que codificam para a síntese de ácido hialurónico são transferidos para bactérias que se desenvolvem mais facilmente, como por exemplo, *Bacillus subtilis* e *Corynebacterium glutamicum*, permitindo a produção mais rápida, eficaz, económica e segura de ácido hialurónico. (75,78)

7.1.2 Produção de Esfingosinas e Ceramidas

As esfingosinas são constituintes de uma classe de lípidos que formam as membranas celulares, os esfingolípídeos, que aumentam não só a permeabilização das mesmas a pequenos solutos, mas também a rigidez das membranas. Quando fosforiladas dão origem a um tipo de esfingosinas que atuam como potentes lípidos de sinalização em diversos processos celulares incluindo a proliferação, diferenciação, migração, etc. (79,80)

As ceramidas são o tipo de esfingolípídeos mais simples.

Ambas as moléculas lipídicas têm um papel fundamental nas membranas celulares, tendo sido utilizadas em cosméticos pelas suas propriedades emolientes e habilidade para fortalecer a barreira da pele. (81)

Uma vez que, a extração de ambas a partir de tecidos animais e vegetais se mostrou preocupante pela presença de contaminantes e ineficiente, respetivamente, recorreu-se à síntese química que, também não demonstrou ser uma alternativa viável pois, resultava numa mistura racémica que não podia ser utilizada em produtos cosméticos pela necessidade de fazer corresponder a estereoquímica das moléculas sintetizadas às moléculas naturais da pele.

Para contornar estes problemas, foram sintetizadas ceramidas a partir de leveduras como a *Saccharomyces cerevisiae* e *Wickerhamomyces ciferrii*. Algumas leveduras selvagens produzem, naturalmente, ceramidas biocompatíveis com a pele a partir de genes muito semelhantes aos humanos. Assim, resta apenas aprimorar o processo de fermentação, melhorando as condições de cultura das leveduras. Uma das formas de o fazer passa por recorrer à engenharia metabólica que permite eliminar enzimas, como as hidrólases esfingolípídicas, que degradam as ceramidas. (75)

7.1.3 Produção de Tensioativos

Os tensioativos biológicos são compostos anfífilicos de origem microbiológica com capacidade de reduzir a tensão superficial e atuar como agentes antimicrobianos. (82)

Atualmente têm ganho uma atenção especial pelo facto de serem ambientalmente compatíveis e demonstrarem um baixo potencial tóxico e irritante para a pele, mantendo as características dos tensioativos tradicionais derivados do petróleo (emulsificação, solubilização e formação de espuma). (75)

São exemplos de tensoativos biológicos os ramnolípidos, os sofrólípidos e os lipopéptidos produzidos naturalmente por microrganismos como: *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e algumas espécies de *Candida*. A sua biossíntese é conhecida mas, através da tecnologia recombinante, tornou-se mais eficiente, rápida e económica possibilitando uma produção em larga escala (Tabela 8). (83)

Tabela 9 – Estirpes recombinantes e impacto na produção de tensoativos.
Adaptado de (83)

Estirpe mutante/recombinante	Características	Impacto na Produção
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 59C7	Mutante <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PG201 induzido por transposição Tn5-GM	Aumento da produção em 2x
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PTCC 1637	Mutagénese aleatória com N-metil-N'-nitro-Nitrosoguanidina	Aumento da produção em 10x
<i>Bacillus licheniformis</i> KGL11	Mutagénese aleatória com N-metil-N'-nitro-Nitrosoguanidina	Aumento da produção em 12x
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 55033	Mutagénese aleatória com N-metil-N'-nitro-Nitrosoguanidina	Aumento da produção em 4 a 6x
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> EBN-8	Mutante <i>Pseudomonas aeruginosa</i> S8 induzido por raios gama	Aumento da produção em 2 a 3x
<i>Bacillus subtilis</i> Suf-1	Mutante <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21332 induzido por raios ultravioleta	Aumento da produção em 3 a 4x
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1	Seleção mutagénica com base na resistência ao detergente catiónico CTAB	Aumento da produção em 2 a 3x
<i>Bacillus subtilis</i> MI 113 recombinante	Incorporação de um plasmídeo contendo o gene <i>lpa-14</i>	Aumento da produção em 8x
<i>Bacillus subtilis</i> SD901	Mutagénese aleatória com N-metil-N'-nitro-Nitrosoguanidina	Aumento da produção em 4 a 25x
Estirpe <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21332 recombinante	Contém um péptido sintetase modificada por recombinação	Produção do lipohexapeptido com toxicidade reduzida
<i>Bacillus subtilis</i> recombinante	Produzido por permuta enzimática moduladora	Produção de lichenisina
<i>Pseudomonas putida</i> KT2442 recombinante e <i>P. fluorescens</i>	Expressão de genes clonados <i>rhIAB</i> em hospedeiros heterólogos	Produção de rhamnolípidos em estirpes não patogénicas
<i>Gordonia amarae</i> recombinante	Expressão do gene da hemoglobina de <i>Vitreoscilla</i>	Aumento da produção de trealose (biotensoativo) em 4x

Os tensoativos biológicos poderão ser os tensoativos do futuro na indústria cosmética pelas enormes vantagens que têm apresentado, mais concretamente pelo facto de se

basearem em recursos renováveis, sustentáveis e biologicamente renováveis. Para além disto, demonstraram ainda ser conservantes alternativos, pela sua eficiência antimicrobiana, quer bacteriana como fúngica, (bastante útil no combate à resistência microbiana que tem vindo a aumentar significativamente), antitumorais e agentes hemolíticos. (82,84)

7.1.4 Produção de Esqualeno

Todos os ingredientes mencionados conseguem ser obtidos através de fontes microbiológicas selvagens, utilizando-se a recombinação genética para aumentar a eficiência da sua produção no hospedeiro natural ou para transferir genes de interesse para hospedeiros mais seguros, afáveis e viáveis. Mas, os micróbios também podem ser programados para produzirem compostos que nunca produziram antes.

Isto é possível graças aos avanços tecnológicos que permitem a identificação, por vezes, de milhares de variantes enzimáticas responsáveis pela enorme diversidade de metabolitos.

Um exemplo de uma colonização inesperada é o esqualeno. Este ingrediente utilizado em múltiplos produtos cosméticos pelas suas propriedades emolientes e, é originalmente obtido a partir do fígado de tubarão (85). Sendo esse meio de obtenção pouco viável, desenvolveu-se um método renovável para produção de esqualeno através da modificação genética de leveduras das canas de açúcar.

Estas leveduras são modificadas para conterem enzimas da via do mevalonato (via metabólica associada com a manutenção das membranas celulares) das plantas e produzirem grandes quantidades de β -farneseno (precursor do esqualeno *in vivo*) aquando o seu crescimento durante a fermentação. (75)

7.2 Pro e prebióticos

Em 2001 a Organização Mundial de Saúde definiu probiótico como sendo organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro.

A utilização de probióticos para reestabelecer a flora microbiana do intestino é bastante comum (trata-se de um mercado avaliado em cerca de 36 biliões de dólares) tendo-se demonstrado benéfica para a saúde através da interação com o epitélio

intestinal, prevenindo a aderência de bactérias indesejáveis e regulando o sistema imunitário local, através da libertação de interleucinas e péptidos antimicrobianos. (23,86–88)

A partir desta informação, estudos têm vindo a ser realizados de modo a tentar aplicar o mesmo princípio ao microbiota da pele.

Assim, em 2005 foi patenteado um método de tratamento dermatológico utilizando extractos de *Lactobacillus* para estimulação das β -defensinas (proteínas catiónicas capazes de combater diferentes microrganismos) presentes nas células da pele (89), a fim de combater doenças como a acne, ou para baixar a densidade microbiológica nas zonas sensíveis da pele, tornando os produtos menos irritantes.

Apesar de, teoricamente, os benefícios dos probióticos para uso tópico serem bem aceites pela necessidade de manutenção do equilíbrio do microbiota da pele, na prática este assunto torna-se bem mais delicado.

Existem ainda muitos profissionais de saúde e da própria indústria cosmética que questionam o risco inerente ao manuseamento de produtos contendo microrganismos vivos. Não só pelo aumento no rigor das condições de utilização e armazenamento, mas também pelo facto da venda de formulações contendo “contaminantes” ser proibida. (56)

Para contornar estes obstáculos poderiam ser utilizadas embalagens unidose contendo o probiótico, poderiam encapsular-se os microrganismos ou ainda utilizar métodos de preservação alternativos incluindo a refrigeração de produtos de validade reduzida.

Também se poderia optar pela utilização de microrganismos mortos ou extratos dos mesmos que retenham os benefícios das células vivas. Por exemplo, os microrganismos mortos poderiam servir para bloquear recetores de ligação ou para estimular as células epiteliais à síntese de péptidos catiónicos antimicrobianos, como as defensinas e catelicidinas mencionadas anteriormente.

Deste modo, também a formulação seria facilitada uma vez que, desenvolver um cosmético física e quimicamente estável contendo microrganismos vivos é um processo bastante complexo.

Outra solução viável seria a produção de prebióticos ao invés de probióticos. Estes são ingredientes nutricionais, não digeríveis, que induzem o crescimento de modo seletivo de microrganismos desejados num determinado local. (23)

Atualmente, o potencial da utilização de pro e prebióticos em produtos cosméticos começa a ser identificado por parte de algumas empresas, entre elas empresas de renome.

7.3 Novas apostas da Indústria

A Johnson & Johnson está a ajudar a empresa de biotecnologia S-Biomedic a desenvolver um tratamento, utilizando bactérias, tanto com ação terapêutica como aplicação cosmética. (56) Para além disto, está por detrás da publicação de vários artigos sobre o microbiota das peles das crianças e bebés (54) e ainda, da publicação de um artigo acerca do papel da função barreira da pele na modulação do potencial que o Microbiota tem no aparecimento de doenças. (90)

A Gallinée é uma empresa que dispõe de uma vasta linha de produtos (leite corporal, creme de mãos, creme hidratante facial, máscara esfoliante facial e ainda uma espuma de limpeza de rosto) contendo pro e prebióticos, sendo a primeira empresa a fazê-lo. Os produtos contêm bactérias inativas do género *Lactobacillus* juntamente com fibras prebióticas e açúcares (que fomentam o crescimento de bactérias comensais), e ainda, ácido láctico que ajuda na otimização do pH da pele. (56)

A Procter & Gamble, uma multinacional detentora de marcas como a Oral-B, Vick, Pantene, Herbal Essences, entre muitas outras; patenteou o uso tópico de agentes prebióticos comensais da pele e a composição de produtos contendo os mesmos. (91)

Também a L'Oréal patenteou a "*Preparation of cosmetic active principles by culturing vitreoscilla on thermal water and compositions comprising them*". A *Vitreoscilla* é uma bactéria aeróbica gram-negativa cujo fermento pretende balançar o microbiota de peles secas. (92)

Yun Probiotherapy trata-se de uma marca cuja filosofia é "Love your Bacteria", incorporando nos seus produtos *Lactobacillus* vivos em microcápsulas, evitando a contaminação dos restantes ingredientes e ainda, um sistema de conservação natural ativado pelo pH que se desativa aquando o contacto com o pH da pele.

Estes produtos destinam-se ao tratamento de problemas como a acne, juvenil e tardia, a pele sensível e ainda doenças dermatológicas dos pés como o pé de atleta. (56)

Algumas empresas star-up começam também a ganhar interesse no microbiota. É o exemplo da AOBiome que, em 2015, lançou uma linha de produtos (denominada Mother Dirt) contendo bactérias *Nitrosomonas eutropha* (comensais da pele) que são

uma fonte de óxido nítrico, importante na regulação da resposta inflamatória através da inibição da adesão celular, da produção de citocinas e quimiocinas e ainda adesão e migração dos leucócitos.

Esta linha surge de modo inesperado, através de um estudo que tentava explicar o porquê de os cavalos reboarem na lama e a partir do qual foi descoberto que os cavalos faziam-no pelas propriedades calmantes da lama derivadas da presença de *Nitrosomonas eutropha* que, consumiam o amoníaco existente no suor e transformavam-no em oxido nítrico que, por sua vez, regulava a inflamação.

A AOBiome teoriza que a presença destas bactérias na pele humana terá sido, em tempos, bastante mais comum mas, com a crescente utilização de tensioativos para limpeza da pele, estes terão desaparecido.

Surge assim a linha Mother Dirt que pretende reestabelecer estes microrganismos na superfície cutânea, promovendo a sua saúde e diminuindo a ocorrência de patologias da pele (92), sendo os seus resultados visíveis. Uma jornalista americana testou o produto durante um mês, utilizando-o como substituto de um banho e, relatou que não desenvolveu odores corporais desagradáveis e a sua pele aparentava-se mais saudável. Ainda não foram reportados efeitos adversos à utilização do produto. (56)

Outra empresa de biotecnologia, a Azitra, desenvolveu um micróbio recombinante com base no *Staphylococcus epidermidis* que expressa filagrina que se liga às fibras de queratina nas células epiteliais cutâneas, regulando a secreção de lípidos e ajudando na retenção de água na pele. Ou seja, a intenção é partir de um gene de interesse, inseri-lo no genoma de um microrganismo comensal da pele e colonizar a pele com esse microrganismo que irá secretar as proteínas com potencial terapêutico.

Apesar de inovador, este conceito depara-se com um obstáculo: a curta longevidade das bactérias recombinantes que, à medida que se multiplicam, perdem o gene inserido que, neste caso, codifica para a filagrina.

Por conseguinte, a empresa tem procurado um meio para manter as bactérias viáveis até à sua utilização considerando, de momento, secar as bactérias para que entrem num estado inativo (adormecido) e colocá-las num emoliente sem água. Assim, no momento da aplicação, a humidade da pele iria trazê-las ao modo ativo. (56)

Existe ainda a PreBio Defense que consiste numa mistura de polissacáridos que estimulam o crescimento de bactérias comensais. Esta inclui β -glucanos (açúcares constituintes das paredes celulares de diversos fungos e bactérias e estimulantes do sistema imunitário) que são acondicionados em microcápsulas de celulose. (93,94)

Sediada em Barcelona, a Greenaltech detém um prebiótico derivado das membranas celulares de microalgas, concentrado principalmente em hidratos de carbono, entre outros constituintes com potencial terapêutico dermatológico como, ácidos gordos polinsaturados, carotenos, polifenóis (antioxidantes), fitosteróis (propriedades anti-inflamatórias), proteínas, aminoácidos e enzimas. A combinação destes compostos bioactivos é responsável pelas propriedades antibióticas, antivirais, antineoplásicas e imuno-estimulantes das microalgas. (95,96)

Mais recentemente, também empresas que desenvolvem ingredientes para produtos de cuidado pessoal estão interessadas em desenvolver ingredientes activos benéficos para o Microbiota da pele.

A BASF (empresa química) e a Givaudan (fabricante de fragâncias e sabores para produtos cosméticos) têm introduzido produtos para enaltecer o Microbiota (next frontier). A primeira tem estudado os efeitos de um novo ingrediente que fomenta o crescimento de *S. epidermidis* e reduz o crescimento de *S. aureus*, associada à pele seca e dermatites. O então denominado Relipidium, é obtido através de fermentação bacteriana a partir de um hidrolisado de levedura biofermentado por *Lactobacillus plantarum*, resultando em proteínas, aminoácidos e ácidos gordos de cadeia curta benéficos. (97)

Por outro lado, a empresa Givaudan, também desenvolveu um ingrediente inovador, designado Revivyl que promete fazer “renascer” a pele estimulando a diferenciação celular e esfoliando a as células mais envelhecidas. Trata-se de um extrato de *Orobancha rapum*, uma planta única que não apresenta clorofila e se desenvolve maioritariamente na Europa, que inibe o crescimento de *Finegoldia genus* (oportunista patogénico da pele) e é enriquecido em dois ésteres de açúcar polifenólicos específicos: crenatoside e acteoside, conhecidos pelas suas elevadas propriedades antioxidantes. (98)

A empresa apresenta ainda um produto iluminador da pele e potente despigmentante que, é ativado pelas bactérias residentes da pele. Este é composto por um α -glicosídeo derivado do ácido tri-hidroxibenzoico (designado pela empresa de THBG) que, quando aplicado na pele, é convertido por determinadas bactérias a ácido tri-hidroxibenzoico, uma molécula com capacidade de uniformizar e iluminar a pele pelas suas diversas ações como: captura de radicais livres induzidos pela radiação ultravioleta (UV), previne a danificação do ADN pelos raios UV, satura os recetores dos queratinócitos para os melanossomas, bloqueia a síntese de melanina e controla a expressão de diferentes fatores envolvidos na melanogénese. (99)

Para finalizar, recentemente foi criada uma patente que divulga sistemas e métodos para melhorar a saúde do Microbiota de um indivíduo.

Neste caso, a patente reivindica a aplicação de uma loção, unguento ou gel contendo um grupo selecionado de bactérias (*Prevotella*; *Lactobacillus johnsonii*; *Bacteroides fragilis*; *Lactobacillus ruminus*; *L. infantitis*; *Propionibacterium*; and *Staphylococcus aureus*), modificadas geneticamente de modo a diminuir a sua patogenicidade, em recém-nascidos nas suas primeiras 6 horas de vida com o objectivo de melhorar a saúde dermatológica dos mesmos. (100)

8 Conclusões

A existência de organismos comensais no trato gastrointestinal sempre foi bem aceite pela população havendo cuidado por parte desta para a manutenção dos mesmos, mas, quando se falava da presença de microrganismos na pele, o sentimento era de repulsa e repugna.

Durante anos o ser humano sempre fez os possíveis por eliminar os microrganismos e o contacto com os mesmos pois, a sua presença estava associada ao aparecimento de doenças.

Do que a sociedade não se apercebeu foi que ao eliminar os micróbios patológicos, estaria também a eliminar os que são benéficos para o organismo ficando este mais vulnerável ao invés de protegido, como se desejava.

Atualmente, a complexidade e importância do microbiota da pele é inegável e a distribuição dos microrganismos que o constituem revelou-se, surpreendentemente, bem mais organizada do que anteriormente se pensava.

Apenas recentemente se percebeu que a disposição de bactérias, fungos e ácaros sobre a pele não é aleatória, sendo feita de acordo com as necessidades biológicas de cada tipo de microrganismo. Isto leva a que, mesmo em diferentes indivíduos, esta disposição seja semelhante.

Com a ideia, cada vez mais presente, de que as doenças de pele estão associadas ao desequilíbrio e destabilização do microbiota da pele, a preocupação em evitar que isso aconteça é crescente. Deste modo, tendo-se demonstrado que a utilização de cosméticos prejudica a composição do microbiota da pele, a indústria tem procurado alternativas que não tenham um impacto tão negativo na saúde dermatológica.

A utilização de pro e prebióticos, de antimicrobianos naturais e a modificação genética de alguns microrganismos são o potencial futuro da indústria cosmética que se prevê que combata os problemas de pele cuja incidência tem aumentado.

Assim, há um enorme potencial de descoberta de novos meios para obtenção de produtos que impactem o microbiota de modo seletivo.

Para que todas estas mudanças sejam aceites pela sociedade há que reeducar a população. Esta, ainda se demonstra bastante séptica à utilização de microrganismos em produtos cosméticos, ou fomentação do seu crescimento na pele, pelo risco associado.

Para isso, são necessários estudos cada vez mais pormenorizados que resultem em conclusões concretas visando transmitir confiança e segurança ao consumidor.

A favor da indústria está o facto deste mesmo consumidor procurar cada vez mais produtos naturais, ecológicos e sustentáveis. O consumidor que prima pela abolição química será o consumidor mais facilmente convencido à importância da manutenção da homeostasia do microbiota da pele.

Por fim, o estudo do microbiota da pele e dos diferentes impactos que os cosméticos têm no mesmo abre não só imensas portas à indústria cosmética, pelo seu potencial crescimento, mas também, revoluciona totalmente a terapêutica aconselhada aquando o aparecimento de doenças de pele.

Referências Bibliográficas

1. Jain N, Chaudhri S. History of cosmetics. *Asian J Pharm* [Internet]. 2009;3(3):164. Available from: <http://www.asiapharmaceutics.info/text.asp?2009/3/3/164/56292>
2. Skin's Microbiome Research Reveals Unexpected Bacteria Variety. 2016;46722807.
3. Schommer NN, Gallo RL. Structure and function of the human skin microbiome. *Trends Microbiol* [Internet]. 2013;21(12):660–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2013.10.001>
4. Grice, Elizabeth A. (Genetics and Molecular Biology Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, 20892–4442 U., Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2013;9(4):244–53.
5. Iadecola C, Anrather J, Medical WC. HHS Public Access. 2012;17(7):796–808.
6. Patra VK, Byrne SN, Wolf P. The skin microbiome: Is it affected by UV-induced immune suppression? *Front Microbiol*. 2016;7(AUG):1–11.
7. Development N, Israel B. HHS Public Access. 2016;110(9):1453–67.
8. Capone KA, Dowd SE, Stamatias GN, Nikolovski J. Diversity of the Human Skin Microbiome Early in Life. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2011;131(10):2026–32. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15350363>
9. Kong HH, Segre JA. Skin Microbiome: Looking Back to Move Forward. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2012;132(3):933–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15356438>
10. Capone K. New Findings and the Impact of Infant Skin Microbiota on Product Development. *Cosmet Toilet*. 2014;10–3.
11. Sanmiguel A, Grice EA. HHS Public Access. 2016;72(8):1499–515.
12. Fierer N, Hamady M, Lauber CL, Knight R. The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. *Proc Natl Acad Sci*

- [Internet]. 2008;105(46):17994–9. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0807920105>
13. Findley K, Oh J, Yang J, Conlan S, Deming C, Meyer JA, et al. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin - sup informations. *J Chem Inf Model*. 1989;53(September):160.
 14. Rather PA, Hassan I. Human demodex mite: the versatile mite of dermatological importance. *Indian J Dermatol* [Internet]. 2014 Jan [cited 2017 Sep 14];59(1):60–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24470662>
 15. Yun CH, Yun JH, Baek JO, Roh JY, Lee JR. Demodex Mite density determinations by standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination and their relations with clinical types and distribution patterns. *Ann Dermatol*. 2017;29(2):137–42.
 16. Findley K, Oh J, Yang J, Conlan S, Deming C, Meyer JA, et al. Human Skin Fungal Diversity. *Nature*. 2013;498(7454):367–70.
 17. Seifert KA. The Human Microbiome Project: fungi on human skin. 2013;(16):16–8.
 18. Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat Med* [Internet]. 2017;23(3):314–26. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nm.4272>
 19. Versalovic J. The Placenta Harbors a Unique Microbiome. 2016;6(237):1–22.
 20. Gupta AK, Kohli Y. Prevalence of *Malassezia* species on various body sites in clinically healthy subjects representing different age groups. *Med Mycol*. 2004;42(February):35–42.
 21. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. *Science* (80-) [Internet]. 2009;326(5960):1694–7. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1177486>

22. Danaher M, Scholz D, Segura E, Darley M. Natural vs . Synthetic Antimicrobials and HDAC as an Indicator of Microflora Health Soft Touch of Luxury. 2015;130(4):22–34.
23. Paradox T, Microflora N. The Probiotic Nature of Normal Microflora. 2017;4–7.
24. Coderch L, López O, de la Maza A, Parra JL. Ceramides and skin function. *Am J Clin Dermatol* [Internet]. 2003 [cited 2017 Sep 14];4(2):107–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12553851>
25. By A, Alkazaz T, Danaher M, Goodman J, Segura E, Scholz D. Preserving Microbiome Harmony : Antimicrobial Peptides Balance Skin Health. 2017;
26. WHO WHO. Global Report on Psoriasis. World Heal Organ are available WHO website or can be Purch from WHO Press World Heal Organ [Internet]. 2016;48. Available from: [www.who.int/about/licensing/%0A\(www.who.int/about/licensing/%0Acopyright_form/en/index.html\)%00](http://www.who.int/about/licensing/%0A(www.who.int/about/licensing/%0Acopyright_form/en/index.html)%00)
27. Guttman-Yassky E, Krueger JG. Atopic dermatitis and psoriasis: two different immune diseases or one spectrum? *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2017;48:68–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2017.08.008>
28. Rook GAW. Hygiene hypothesis and autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012;42(1):5–15.
29. Global Acne Market Pops to \$ 7 , 348 Million by 2025. 2017;60188.
30. The rise of adult acne is “like an epidemic” [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <http://www.telegraph.co.uk/health-fitness/body/the-rise-of-adult-acne-is-like-an-epidemic/>
31. Eichenfield LF, Ellis CN, Mancini AJ, Paller AS, Simpson EL. Atopic Dermatitis: Epidemiology and Pathogenesis Update. *Semin Cutan Med Surg* [Internet]. 2012;31(3 SUPPL.):S3–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sder.2012.07.002>
32. Fitz-gibbon S, Tomida S, Chiu B, Nguyen L, Du C, Miller JF, et al. HHS Public Access. 2014;133(9):2152–60.

33. Muszer M, Noszczyńska M, Kasperkiewicz K, Skurnik M. Human Microbiome: When a Friend Becomes an Enemy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015;63(4):287–98.
34. Kang D, Shi B, Erfe MC, Craft N, Li H. Vitamin B12 modulates the transcriptome of the skin microbiota in acne pathogenesis. *Sci Transl Med* [Internet]. 2015 [cited 2017 Sep 14];7(293). Available from: http://stm.sciencemag.org/content/7/293/293ra103?_ga=2.188847723.1777560900.1504630616-570050533.1503571521
35. Ismail NH, Manaf ZA, Azizan NZ. High glycemc load diet, milk and ice cream consumption are related to acne vulgaris in Malaysian young adults: a case control study. *BMC Dermatol* [Internet]. 2012;12(1):13. Available from: <http://bmcdematol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-5945-12-13>
36. Melnik BC. Linking diet to acne metabolomics, inflammation, and comedogenesis: An update. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015;8:371–88.
37. Fahlén A, Engstrand L, Baker BS, Powles A, Fry L. Comparison of bacterial microbiota in skin biopsies from normal and psoriatic skin. *Arch Dermatol Res*. 2012;304(1):15–22.
38. Antonsson A, Erfurt C, Hazard K, Holmgren V, Simon M, Kataoka A, et al. Prevalence and type spectrum of human papillomaviruses in healthy skin samples collected in three continents. *J Gen Virol*. 2003;84(7):1881–6.
39. Yan D, Issa N, Afifi L, Jeon C, Chang H-W, Liao W. The Role of the Skin and Gut Microbiome in Psoriatic Disease. *Curr Dermatol Rep* [Internet]. 2017;6(2):94–103. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13671-017-0178-5>
40. Picardo M, Ottaviani M. Skin Microbiome and Skin Disease. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 2014;48(December):S85–6. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00004836-201411001-00023>
41. Chang YS, Huang YC. Role of Demodex mite infestation in rosacea: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2017;77(3):441–447.e6. Available from:

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2017.03.040>
42. Gough NR. Hyperactive Antimicrobial Response Produces Rosacea. *Sci Signal* [Internet]. 2007 [cited 2017 Sep 14];2007(399). Available from: <http://stke.sciencemag.org/content/2007/399/tw290>
 43. Paulino LC. New perspectives on dandruff and seborrheic dermatitis: lessons we learned from bacterial and fungal skin microbiota. *DoiOrg* [Internet]. 2017;27(S1):4–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28690211>
 44. Park T, Kim H-J, Myeong NR, Lee HG, Kwack I, Lee J, et al. Collapse of human scalp microbiome network in dandruff and seborrhoeic dermatitis. *Exp Dermatol* [Internet]. 2017 Sep [cited 2017 Sep 14];26(9):835–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28094891>
 45. Nutten S. Atopic dermatitis: Global epidemiology and risk factors. *Ann Nutr Metab*. 2015;66(suppl 1):8–16.
 46. Irvine AD, McLean WHI, Leung DYM. Filaggrin Mutations Associated with Skin and Allergic Diseases. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Oct 6 [cited 2017 Sep 14];365(14):1315–27. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra1011040>
 47. Williams MR, Gallo RL. The Role of the Skin Microbiome in Atopic Dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015;15(11).
 48. Cooper AJ, Weyrich LS, Dixit S, Farrer AG. The skin microbiome: Associations between altered microbial communities and disease. *Australas J Dermatol*. 2015;56(4):268–74.
 49. Britton AM. University of New Hampshire Scholars' Repository The Beauty Industry' s Influence on Women in Society. 2012;2. Available from: <http://scholars.unh.edu/honors>
 50. Robe P, Jarrin C, Auriol D, Lefèvre F, Schnebert S, Nizard C. How Do Cosmetic Formulas Impact Skin ' s Microbiome ? *Cosmet Toilet Mag*. 2016;1–9.
 51. Robertson ED, Weir L, Romanowska M, Leigh IM, Panteleyev a. a. ARNT controls the expression of epidermal differentiation genes through HDAC- and

- EGFR-dependent pathways. *J Cell Sci.* 2012;125(14):3320–32.
52. Ziegler K, Mullican SE, Choi I, Grunberg S, Sinha R. Dependent Intestinal Homeostasis. 2014;504(7478):153–7.
 53. Kim Y, Kim K, Park D, Lee E, Lee H, Lee YS, et al. Histone deacetylase 3 mediates allergic skin inflammation by regulating expression of MCP1 protein. *J Biol Chem.* 2012;287(31):25844–59.
 54. By A, Alice M, Communications A, Cove Z. The Microbiome : Our Greatest Challenge or Best Opportunity ? 2016;3–5.
 55. Cosmetics deals push skin 3D bioprinting | Business | Chemistry World [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <https://www.chemistryworld.com/news/cosmetics-deals-push-skin-3d-bioprinting/8977.article>
 56. Reisch MS. Cosmetics: The next microbiome frontier. *Chem Eng news 'news Ed Am Chem Soc* [Internet]. 2017;95(19):8 May. Available from: http://cen.acs.org/articles/95/i19/Cosmetics-next-microbiome-frontier.html%5Cnhttp://www.cosmeticsdesign-europe.com/Formulation-Science/What-is-the-skin-microbiome-and-why-does-it-matter-to-the-beauty-industry?utm_source=newsletter_daily&utm_medium=email&
 57. Liu AH. Revisiting the hygiene hypothesis for allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015;136(4):860–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.08.012>
 58. Mancini AJ, Kaulback K, Chamlin SL. The Socioeconomic Impact of Atopic Dermatitis in the United States: A Systematic Review. *Pediatr Dermatol* [Internet]. 2008 Jan 1 [cited 2017 Sep 14];25(1):1–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1525-1470.2007.00572.x>
 59. Maillard JY. Bacterial target sites for biocide action. *Symp Ser Soc Appl Microbiol.* 2002;(31):16S–27S.
 60. Jones RD, Jampani HB, Newman JL, Lee AS. Triclosan: A review of effectiveness and safety in health care settings. *Am J Infect Control* [Internet]. 2000;28(2):184–96. Available from:

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655300900270>
61. Giuliano CA, Rybak MJ. Efficacy of triclosan as an antimicrobial hand soap and its potential impact on antimicrobial resistance: A focused review [Internet]. Vol. 35, *Pharmacotherapy*. 2015 [cited 2017 Sep 14]. p. 328–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25809180>
 62. McNamara PJ, Lapara TM, Novak PJ. The impacts of triclosan on anaerobic community structures, function, and antimicrobial resistance. *Environ Sci Technol* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2017 Sep 14];48(13):7393–400. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24915110>
 63. CosIng. CosIng - Cosmetics - GROWTH - European Commission [Internet]. 2017. Available from: http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/index.cfm?fuseaction=search.details_v2&id=28151
 64. By A, Godfrey D. Parabens : Myth and Reality. 2013;7–9.
 65. By A, Krowka JF, Ph D, Products C. Preserving the Facts on Parabens : An Overview of These Important Tools of the Trade. 2017;
 66. AMTicide® Coconut - Active Micro Technologies [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <http://activemicrotechnologies.com/product/amticide-coconut/>
 67. Callewaert C, Hutapea P, Van de Wiele T, Boon N. Deodorants and antiperspirants affect the axillary bacterial community. *Arch Dermatol Res*. 2014;306(8):701–10.
 68. Staudinger T, Pipal A, Redl B. Molecular analysis of the prevalent microbiota of human male and female forehead skin compared to forearm skin and the influence of make-up. *J Appl Microbiol*. 2011;110(6):1381–9.
 69. Herz RS. Perfume. In: *Neurobiology of Sensation and Reward* [Internet]. CRC Press/Taylor & Francis; 2011 [cited 2017 Oct 1]. p. Chapter 17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22593915>
 70. Ingram LO. Ethanol Tolerance in Bacteria. *Crit Rev Biotechnol* [Internet]. 1989 [cited 2017 Oct 2];9(4):305–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2178781>

71. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(1):147–79.
72. Reichel M, Heisig P, Kohlmann T, Kampf G. Alcohols for skin antiseptics at clinically relevant skin sites. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4778–82.
73. Mukherjee PK, Mohamed S, Chandra J, Kuhn D, Liu S, Antar OS, et al. Alcohol dehydrogenase restricts the ability of the pathogen *Candida albicans* to form a biofilm on catheter surfaces through an ethanol-based mechanism. *Infect Immun.* 2006;74(7):3804–16.
74. Cartner T, Brand N, Tian K, Saud A, Carr T, Stapleton P, et al. Effect of different alcohols on stratum corneum kallikrein 5 and phospholipase A2 together with epidermal keratinocytes and skin irritation. *Int J Cosmet Sci.* 2017;39(2):188–96.
75. By A, Agapakis C, McDonnell K, Kakoyiannis J, Bioworks G. Moving Toward Microbes : Bio-engineering a New Cosmetic Reality. 2017;2–5.
76. Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging [Internet]. Vol. 4, *Dermato-Endocrinology*. Taylor & Francis; 2012 [cited 2017 Sep 14]. p. 253–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23467280>
77. Nobile V, Buonocore D, Michelotti A, Marzatico F. Anti-aging and filling efficacy of six types hyaluronic acid based dermo-cosmetic treatment: double blind, randomized clinical trial of efficacy and safety. *J Cosmet Dermatol* [Internet]. 2014 Dec [cited 2017 Sep 14];13(4):277–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25399620>
78. Cheng F, Luozhong S, Guo Z, Yu H, Stephanopoulos G. Enhanced biosynthesis of hyaluronic acid using engineered *Corynebacterium glutamicum* via metabolic pathway regulation. *Biotechnol J* [Internet]. 2017 Sep 4 [cited 2017 Sep 14];1700268. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/biot.201700191>
79. Goñi FM, Sot J, Alonso A, Thudichum JLW, Dahlén B, Pascher I, et al. Biophysical properties of sphingosine, ceramides and other simple sphingolipids. *Biochem Soc Trans* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2017 Sep

- 14];42(5):1401–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25233422>
80. Yu H, Yuan L, Xu M, Zhang Z, Duan H. Sphingosine kinase 1 improves cutaneous wound healing in diabetic rats. *Injury* [Internet]. 2014 Jul [cited 2017 Sep 14];45(7):1054–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24685054>
81. Janůšová B, Zbytovská J, Lorenc P, Vavryšová H, Palát K, Hrabálek A, et al. Effect of ceramide acyl chain length on skin permeability and thermotropic phase behavior of model stratum corneum lipid membranes. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 Sep 14];1811(3):129–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21167310>
82. Inès M, Dhouha G. Lipopeptide surfactants: Production, recovery and pore forming capacity. *Peptides* [Internet]. 2015 Sep [cited 2017 Sep 14];71:100–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26189973>
83. Mukherjee S, Das P, Sen R. Towards commercial production of microbial surfactants [Internet]. Vol. 24, *Trends in Biotechnology*. Elsevier Current Trends; 2006 [cited 2017 Sep 14]. p. 509–15. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779906002393>
84. Müller MM, Kügler JH, Henkel M, Gerlitzki M, Hörmann B, Pöhnlein M, et al. Rhamnolipids-Next generation surfactants? *J Biotechnol* [Internet]. 2012 Dec 31 [cited 2017 Sep 14];162(4):366–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22728388>
85. Kim SK, Karadeniz F. Biological Importance and Applications of Squalene and Squalane [Internet]. 1st ed. Vol. 65, *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier Inc.; 2012. 223-233 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00014-7>
86. Liu D, Jiang X-Y, Zhou L-S, Song J-H, Zhang X. Effects of Probiotics on Intestinal Mucosa Barrier in Patients With Colorectal Cancer after Operation. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2016 Apr [cited 2017 Sep 14];95(15):e3342. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27082589>
87. Dietrich CG, Kottmann T, Alavi M. Commercially available probiotic drinks

- containing *Lactobacillus casei* DN-114001 reduce antibiotic-associated diarrhea. World J Gastroenterol [Internet]. 2014 Nov 14 [cited 2017 Sep 14];20(42):15837. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25400470>
88. Pace F, Pace M, Quartarone G. Probiotics in digestive diseases: focus on Lactobacillus GG. Minerva Gastroenterol Dietol [Internet]. 2015 Dec [cited 2017 Sep 14];61(4):273–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26657927>
 89. Skin treatment method with Lactobacillus extract. 2005 [cited 2017 Sep 14]; Available from: <http://www.google.ch/patents/US7510734>
 90. Duckney P, Wong HK, Serrano J, Yaradou D, Oddos T, Stamatas GN. The role of the skin barrier in modulating the effects of common skin microbial species on the inflammation, differentiation and proliferation status of epidermal keratinocytes. BMC Res Notes [Internet]. 2013;6:474. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4225502&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 91. Topical use of a skin-commensal prebiotic agent and compositions containing the same. 2013 [cited 2017 Sep 14]; Available from: <https://www.google.com/patents/WO2013122932A2?cl=en>
 92. Journal I, Science C. International Journal of Cosmetic Science , 2007, 29 , 63–66. International J Cosmet Sci [Internet]. 2007 [cited 2017 Sep 14];9(3):2006–7. Available from: <https://www.google.com/patents/WO2008138839A2?cl=en>
 93. PreBio™ Defense | Lipo Chemicals [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <http://www.lipochemicals.com/products/prebio™-defense>
 94. Akramiene D, Kondrotas A, Didziapetriene J, Kevelaitis E. Effects of beta-glucans on the immune system. Medicina (Kaunas) [Internet]. 2007 [cited 2017 Sep 14];43(8):597–606. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17895634>
 95. Greenaltech - Technology [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <http://www.greenaltech.com/index.php/technology>

96. The role of phytosterols in cosmeceutical products. - Free Online Library [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <https://www.thefreelibrary.com/The+role+of+phytosterols+in+cosmeceutical+products.-a0214793388>
97. Relipidium™ helps to rebalance the skin's ecosystem to restore the skin barrier and increase skin hydration [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <https://www.basf.com/en/company/news-and-media/news-releases/2017/01/p-17-104.html>
98. Revivyl™ por Givaudan Active Beauty - Cuidados Pessoais & Cosméticos [Internet]. [cited 2017 Sep 14]. Available from: <https://www.ulprospector.com/pt/eu/PersonalCare/Detail/830/718404/Revivyl>
99. Brightenyl® Skin complexion biooptimizer. [cited 2017 Sep 14]; Available from: <http://www.lfcastelli.it/AllegatiNovita/Brightenyl.pdf>
100. Method and System to Improve the Health of a Person's Skin Microbiome. 2017 [cited 2017 Sep 14]; Available from: <https://www.google.com/patents/US20170119827>