

Avaliação da eficácia de um hidratante calmante íntimo em região depilada por métodos biofísicos e seus efeitos na microbiota vaginal

Assessment of efficacy of a soothing intimate moisturizer in the shaved region by biophysical methods and its effects in the vaginal microbiota

DOI:10.34119/bjhrv5n3-009

Recebimento dos originais: 14/02/2022

Aceitação para publicação: 28/03/2022

Andréa Bauer Bannach

Graduação em Medicina

Instituição: Universidade de São Paulo (USP)

Endereço: Rod. Pres. Dutra, Km 222,2 – Porto da Igreja, Guarulhos/SP, CEP: 07034-904

E-mail: deabannach@yahoo.com.br

Karen Cristina Rangel

Doutorado em Ciências

Instituição: Universidade de São Paulo (USP)

Endereço: Rod. Pres. Dutra, Km 222,2 – Porto da Igreja, Guarulhos/SP, CEP: 07034-904

E-mail: karen.rangel@ache.com.br

Camila Sirieiro Abreu

Mestre em Pesquisa, Desenvolvimento e Gestão na Indústria Farmacêutica

Instituição: FIOCRUZ

Endereço: Rod. Pres. Dutra, Km 222,2 – Porto da Igreja, Guarulhos/SP, CEP: 07034-904

E-mail: camila.abreu@ache.com.br

Flávia Cardoso Malés

Graduação em Farmácia

Instituição: Faculdade Oswaldo Cruz

Endereço: Rod. Pres. Dutra, Km 222,2 – Porto da Igreja, Guarulhos/SP, CEP: 07034-904

E-mail: flavia.males@ache.com.br

Douglas Costa Moraes

Graduação em Farmácia-Bioquímica

Instituição: FCFRP-USP

Endereço: Rod. Pres. Dutra, Km 222,2 – Porto da Igreja, Guarulhos/SP, CEP: 07034-904

E-mail: douglas.morais@ache.com.br

Gabriela Pacheco de Oliveira

Graduação em Farmácia-Bioquímica

Instituição: Faculdades Oswaldo Cruz

Endereço: Rod. Pres. Dutra, Km 222,2 – Porto da Igreja, Guarulhos/SP, CEP: 07034-904

E-mail: gabriela.oliveira@ache.com.br

Stevin Parreira Zung

Doutorado em ciências

Instituição: Universidade de São Paulo - USP

Endereço: Rod. Pres. Dutra, Km 222,2 – Porto da Igreja, Guarulhos/SP, 07034-904

E-mail: stevinzung@gmail.com

RESUMO

Introdução: A depilação da área íntima é uma prática comum entre as mulheres brasileiras, devido a objetivos estéticos e a aspectos socioculturais. Após a depilação, podem ocorrer sintomas de irritação na pele e complicações inflamatórias e infecciosas devido a mudança do pH e da microbiota local. **Objetivo:** Avaliar os efeitos de um creme hidratante calmante para a área íntima feminina, após depilação e nos dias posteriores. **Métodos:** A hidratação, barreira cutânea e colorimetria da pele foram avaliados por métodos biofísicos. A avaliação da microbiota vaginal foi realizada através da quantificação dos *Bacillus de Döderlein* e determinação do pH vaginal. A eficácia percebida foi avaliada por questionário de intensidade de desconforto/efeito calmante. **Resultados:** O uso do produto por 28 dias não causou alterações na microbiota e no pH vaginal, e melhorou a hidratação, barreira cutânea e vermelhidão da pele imediatamente e após 1, 2, 8 e 24 horas da sua aplicação em relação ao tempo inicial pós-depilação. A maior parte dos participantes não apresentou ardor, vermelhidão e desconforto/irritação. **Conclusão:** O produto testado se mostrou seguro e efetivo para uso na região genital externa feminina após depilação auxiliando na reparação cutânea, reduzindo o desconforto pós procedimento e mantendo a fisiologia local.

Keywords: hidratação, microbiota, depilação, colorimetria, barreira cutânea, pH vaginal.

ABSTRACT

Introduction: Hair removal of the intimate area is a common practice among Brazilian women, due to aesthetic objectives and sociocultural aspects. After hair removal, skin irritation symptoms and inflammatory and infectious complications may occur due to changes in pH and local microbiota. **Objective:** To evaluate the effects of a soothing moisturizing cream for the female intimate area after epilation and in the days afterwards. **Methods:** Hydration, skin barrier and skin colorimetry were evaluated by biophysical methods. Vaginal microbiota was evaluated by quantification of *Bacillus of Döderlein* and determination of vaginal pH. Perceived efficacy was evaluated by discomfort intensity/soothing effect questionnaire. **Results:** Use of the product for 28 days caused no changes in the microbiota and vaginal pH, and improved hydration, skin barrier and skin redness immediately and after 1, 2, 8 and 24 hours of its application compared to the initial post-depilation time. Most participants did not experience burning, redness or discomfort/irritation. **Conclusion:** The product tested was shown to be safe and effective for use in the female external genital region after epilation, aiding in skin repair, reducing post-procedure discomfort and maintaining local physiology.

Keywords: hydration, microbiota, depilation, colorimetry, skin barrier, vaginal Ph.

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A depilação da área íntima é uma prática comum entre as mulheres, devido a objetivos estéticos e a aspectos socioculturais. Uma pesquisa feita entre mulheres brasileiras mostrou que a maioria delas prefere depilar a região pubiana e virilhas, pois associam o hábito à maior

atratividade sexual e melhor higiene, sendo a cera o método depilatório mais comumente empregado¹.

Após a depilação, podem ocorrer sintomas de irritação na pele, como ardência, coceira e vermelhidão, que são proporcionais à extensão da área depilada². Se não adequadamente tratados, podem perdurar por dias e levar a complicações como hipercromia pós-inflamatória e maior predisposição a foliculites e dermatites de contato. Estas, muitas vezes, são desencadeadas ou agravadas pelo uso de produtos impróprios ao local e ao pós-procedimento da depilação². Devido à escassez de produtos cosméticos específicos para uso após a depilação na região genital externa, o emprego de itens inadequados pode gerar ainda a modificação do pH e da microbiota bacteriana vaginal.

O pH vaginal normal se mantém entre 3,5 e 4,5³. Esse ambiente ácido ocorre devido a produção de ácido lático pelos *Bacillus de Döderlein*, os microrganismos mais abundantes na microbiota local, num processo de fermentação de carboidratos (em especial glicogênio) presentes no epitélio vaginal normal de mulheres na menacme. Inflamações e irritações na região íntima costumam ter associação com a redução da quantidade dessas bactérias, também chamadas de lactobacilos ou bacilos acidófilos. O pH ácido dificulta o crescimento de microrganismos potencialmente nocivos ao equilíbrio do ecossistema vaginal. Sabe-se que em pH abaixo de 3,5, ocorre maior risco de infecções fúngicas como candidíases; em pH acima de 4,5, há maior predisposição a vaginoses bacterianas, causadas por bactérias como *Gardnerella* e *Trichomonas*.

Nas mulheres menopausadas, a redução da produção de estrogênio leva a atrofia do epitélio, com conseqüente redução das reservas celulares de glicogênio. Isso reduz a quantidade de *Bacillus de Döderlein* na vagina e leva ao aumento do pH local. Nesse período também se tornam mais marcantes as alterações pelo envelhecimento dos tecidos, como perda de hidratação e elasticidade⁴.

Alterações hormonais, gravidez, uso de medicamentos, hábitos de vestuário e higiene também podem impactar a microbiota genital e a isso se somam as modificações cíclicas do período menstrual.

O creme hidratante usado neste estudo contém ácido hialurônico, BioEcolia® (prebiótico), arnica, vitamina E, avenantramidas e glicerina. O ácido hialurônico é uma glicosaminoglicana, grupo de proteínas que formam a matriz extracelular dos queratinócitos. Por ser uma substância altamente higroscópica, a aplicação de ácido hialurônico na pele confere hidratação e sensação de maciez e suavidade⁵. A BioEcolia® é um glicopolissacarídeo que atua como prebiótico e seu uso estimula o crescimento da microbiota residente, em detrimento da

patogênica, num processo conhecido como biosseletividade⁶. A arnica é uma planta cujas propriedades analgésicas e antiinflamatórias são há tempos exploradas pela medicina. Sua ação se deve a presença de uma substância chamada lactona sesquiterpênica⁷. Vitamina E ou alfa-tocoferol é uma vitamina lipossolúvel, conhecida por suas propriedades antioxidantes⁸. Avenantramidas são substâncias presentes no grão de aveia coloidal, bastante usadas em produtos destinados a doenças inflamatórias de pele, devido a seu efeito calmante e anti-inflamatório⁹. E por fim, a glicerina se apresenta como um líquido viscoso e é usada na formulação devido ao seu efeito umectante⁵.

O uso de cosméticos na região íntima deve preservar o pH local, para não prejudicar o equilíbrio da microbiota, e pode amenizar os sintomas locais de ressecamento ou irritação após a depilação. O objetivo desse estudo é avaliar a eficácia e segurança de um creme hidratante calmante específico para a área íntima feminina, imediatamente após depilação com cera e nos dias posteriores ao procedimento, quanto à hidratação, reparação cutânea e manutenção de pH e microbiota.

2 MÉTODOS

Desenho do Estudo

Foi conduzido um estudo clínico aberto, não comparativo, monocêntrico, para avaliar a eficácia de um hidratante calmante em região íntima (região genital externa e virilha) depilada em população adulta do sexo feminino. O estudo foi realizado de setembro a dezembro de 2020, no Centro de Pesquisa Allergisa Pesquisa Dermato-cosmética LTDA (Campinas, São Paulo, Brasil) após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – Investiga Instituto de Pesquisas (CEP), sob o parecer consubstanciado nº 3.765.850. O estudo foi conduzido de acordo com aspectos regulatórios aplicáveis, incluindo a Resolução CNS Nº. 466/12, e Boas Práticas Clínicas (ICH E6, 2016). Os participantes da pesquisa apenas foram submetidos a qualquer procedimento do estudo após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)^{10,11}.

Participantes do Estudo

Um total de 40 participantes de pesquisa foram incluídos e 37 completaram o estudo. Os principais critérios de inclusão foram: participantes do sexo feminino saudáveis; ter de 18 a 59 anos; estar com a pele e mucosa íntimas integras na região do teste; ter hábito de depilar a virilha com cera; ter pelos da virilha em um tamanho suficiente para depilação na visita 2. Os critérios de exclusão foram: gravidez ou aleitamento; uso de antibióticos tópicos ou sistêmicos, ou

tratamentos tópicos na vulva nas últimas 6 semanas; uso de cremes hidratantes na pele da região íntima 5 dias antes da visita 1; estar em período menstrual ou com sangramento vaginal nos dias das visitas; doença cutânea ou ginecológica na área de aplicação do produto; relações sexuais há pelo menos 72 horas da visita 1; infecção urogenital ou vaginal nos últimos 30 dias; pacientes diabéticos e com complicações relacionadas a diabetes; insuficiência imunológica; uso atual tópico ou sistêmico de corticoide, imunossuppressores e antihistamínicos; doenças de pele, como vitiligo, psoríase, dermatite atópica; antecedente de reação à categoria do produto testado; outras doenças ou medicações que possam interferir no estudo ou pôr em risco a saúde do participante da pesquisa; participantes do grupo de risco para COVID-19, ou seja, com problemas cardiovasculares, renais e respiratórios crônicos, imunossuprimidos ou outras condições que o médico julgue como pertencente ao grupo de risco, visto que o estudo foi conduzido durante o período pandêmico.

Procedimentos Gerais

Durante o estudo clínico, um total de 4 visitas foram realizadas: uma visita de triagem (visita 1), duas visitas de acompanhamento (visitas 2 e 3) e uma visita final (visita 4).

Na visita 1 foram realizadas a avaliação clínica para verificação dos critérios de inclusão/exclusão, coleta de material biológico para avaliação microbiológica da microbiota vaginal e determinação do pH vaginal.

Na visita 2, foram realizadas a aplicação de questionário de intensidade de desconforto/efeito calmante e determinação de medidas instrumentais de hidratação, barreira cutânea e colorimetria (T0 pré-depilação). A seguir, os participantes foram submetidos a depilação da virilha com cera e as avaliações por questionário e medidas instrumentais foram realizadas novamente (T0 pós-depilação). Após realizada a depilação, o produto foi aplicado na região íntima dos participantes, e imediatamente após a aplicação (Timm) foram realizadas novamente as avaliações por questionário e medidas instrumentais, que foram repetidas após 1, 2 e 8 horas (T1h, T2h e T8h, respectivamente) e 24 horas (visita 03) após a aplicação do produto. Na visita 3, os participantes receberam o produto e foram orientados a usar diariamente, duas vezes ao dia, por 28 dias.

Na Visita 4, após 28 dias de uso do produto (T28) foram realizadas a coleta de material para avaliação microbiológica da microbiota vaginal e determinação do pH vaginal.

Avaliação Microbiológica da Microbiota Vaginal e Determinação do pH

A avaliação microbiológica foi realizada por meio da quantificação dos *Bacillus de Döderlein* coletados da vagina. As amostras coletadas foram submetidas à diluição seriada com solução salina até a obtenção da diluição 10^{-5} . A seguir, as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-5} foram plaqueadas em Ágar MRS, então as placas foram incubadas em condições de anaerobiose a $32,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ por 72 horas. Após a incubação, realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônias (10^4 UFC/ mL). A avaliação do pH vaginal foi realizada com fitas de pH.

Eficácia Percebida - Intensidade de Desconforto / Efeito Calmante

Os atributos avaliados no questionário de desconforto/efeito calmante foram: coceira, ardência, vermelhidão e sensação de desconforto/irritação. Eles foram avaliados por meio de uma escala de 4 pontos, onde 1= ausente, 2= leve, 3= moderada e 4 = intenso.

Medidas instrumentais

As medidas instrumentais foram realizadas após 20 minutos de aclimatização dos participantes em ambiente com temperatura e umidade controladas, ao redor de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 5\%$ de umidade relativa, respectivamente. As análises foram realizadas na região íntima (região genital externa e virilha), de acordo com os métodos descritos abaixo.

Hidratação da Pele

A hidratação da pele foi avaliada pela determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo através do equipamento Corneometer® CM 825 (Courage and Khazaka Electronic GmbH, Cologne, Alemanha), que mensura a capacitância elétrica da pele. Os resultados do equipamento são expressos em unidades arbitrárias (u.a.), cuja 1 u.a. corresponde a 0,2–0,9 mg de água por grama de estrato córneo¹². As leituras foram realizadas em uma área de 49 mm².

Barreira Cutânea

A função barreira cutânea foi avaliada pela determinação da perda de água transepidérmica (TEWL) através do equipamento Tewameter® TM 300 (Courage & Khazaka, Cologne, Alemanha). Os valores da leitura do equipamento são dados em g/cm²h, sendo que maiores valores indicam maior TEWL¹³. As leituras foram realizadas com a aplicação da sonda do aparelho em área de aproximadamente 75 mm².

Colorimetria

A vermelhidão da pele foi avaliada por colorimetria através do equipamento Chroma meter® CR-400 (Konica Minolta, Osaka, Japan). O colorímetro é capaz de medir os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* , que constituem um sistema tridimensional capaz de descrever a cor, sendo que o parâmetro L^* expressa o brilho da cor (variando de 100 para uma superfície branca e 0 para uma superfície preta), o a^* é o parâmetro que representa as cores ao longo de um eixo vermelho-verde (variando de +60 para vermelho até -60 para verde), e o parâmetro b^* indica as cores ao longo de um eixo amarelo-azul (variando +60 para amarelo até -60 para azul).¹⁴ Desta forma, no presente estudo o parâmetro a^* foi utilizado para determinar a vermelhidão a pele.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através dos softwares XLSTAT 2020 e MINITAB 14. As avaliações instrumentais e a avaliação do pH vaginal foram analisadas por teste-t pareado unilateral e bilateral, respectivamente. A análise da avaliação da microbiota vaginal foi realizada por Wilcoxon Signed Rank Test (bilateral). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3 RESULTADOS

Avaliação da Segurança

Durante o estudo, não foram observados eventos adversos clínicos cutâneos e ginecológicos relacionados ao uso do produto. O produto foi considerado seguro nas condições avaliadas.

Avaliação da Microbiota Vaginal e pH Vaginal

Os resultados da quantificação de *Bacillus de Döderlein* (10^4 UFC/ mL) antes da depilação (T0 pré-depilação) e após 28 dias de uso do produto estão apresentados na Figura 1. Após 28 dias de uso do produto não houve alteração significativa na contagem de *Bacillus de Döderlein* em comparação ao T0 pré-depilação ($p= 0,110$). Além disso, também não foi observada alteração no pH vaginal após 28 dias (T28) em relação ao T0 pré-depilação ($p= 0,536$), conforme Figura 2.

Figura 1: quantificação de *Bacillus de Döderlein* antes da depilação e após 28 dias de uso do produto

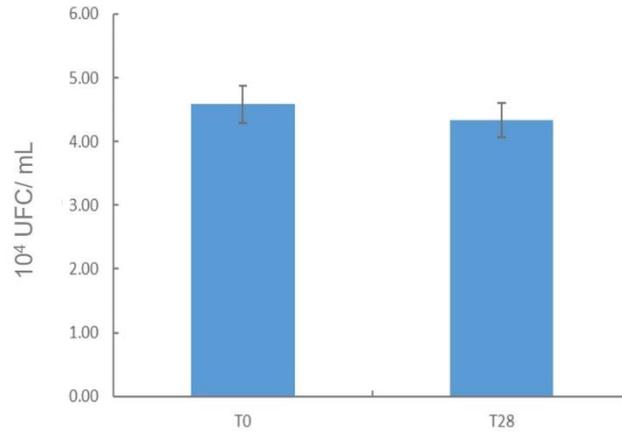
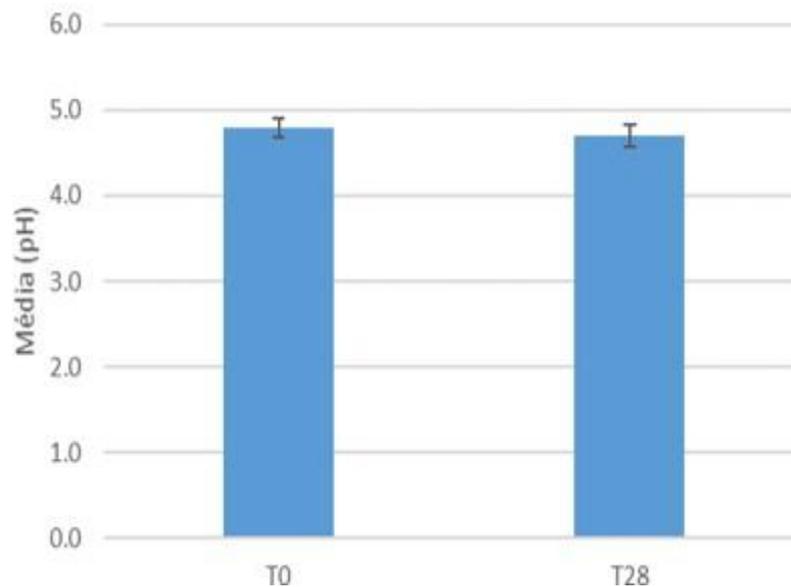


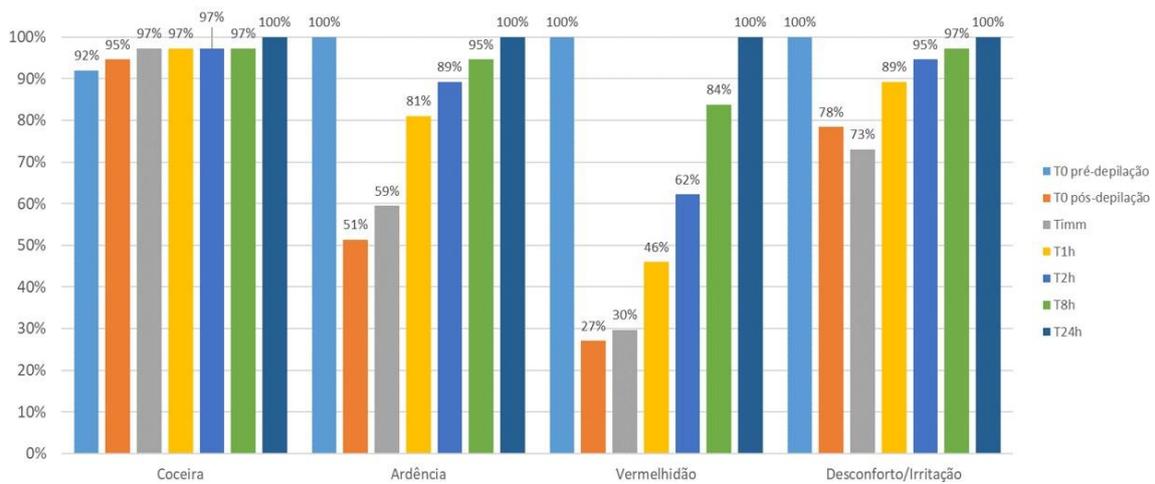
Figura 2: pH vaginal antes da depilação e após 28 dias de uso do produto



Avaliação da Eficácia Percebida Pelo Participante

Os resultados do questionário de intensidade de desconforto/efeito calmante aplicado as participantes são apresentados na Figura 3, como porcentagem de participantes sem coceira, sem ardor, sem vermelhidão e sem desconforto/irritação, ou seja, cujas respostas apresentaram valores iguais a 1. Após 1, 2, 8 e 24h da aplicação do produto (T1h, T2h, T8h, T24h, respectivamente), uma maior proporção de participantes não apresentou ardor, vermelhidão e desconforto/irritação em comparação ao T0 pós-depilação.

Figura 3: resultados do questionário aplicado as participantes

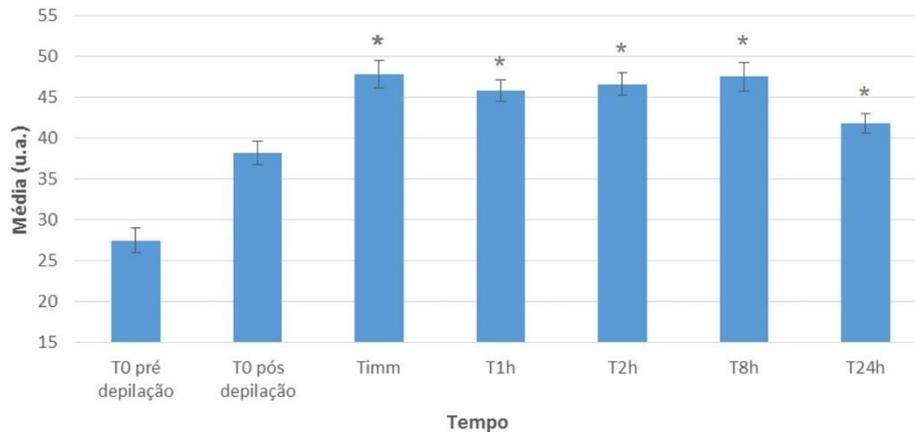


4 MEDIDAS INSTRUMENTAIS

Hidratação

O conteúdo de água do estrato córneo apresentou um aumento significativo imediatamente após a aplicação do produto (Timm), e após 1, 2, 8 e 24h da aplicação do produto (T1h, T2h, T8h, T24h, respectivamente) em relação ao tempo T0 pós-depilação (Figura 4).

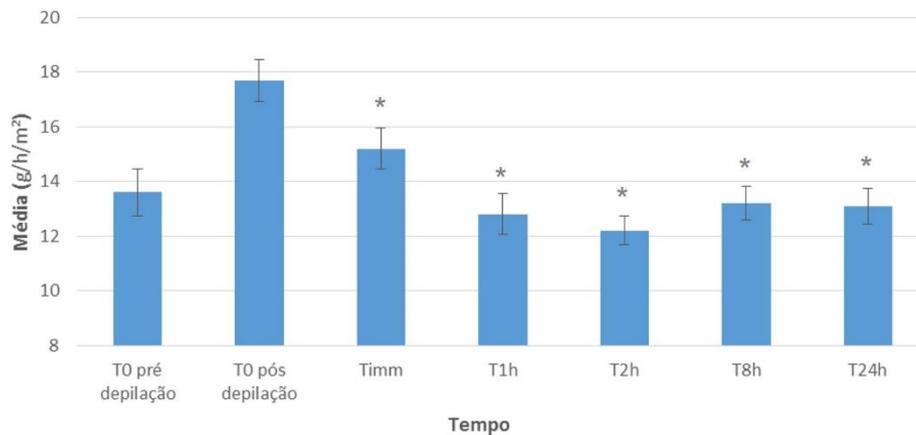
Figura 4: avaliação da hidratação da pele



Barreira Cutânea

Imediatamente após a aplicação do produto (Timm), e após 1, 2, 8 e 24h da aplicação do produto (T1h, T2h, T8h, T24h, respectivamente) observou-se uma redução significativa dos valores de perda de água transepidérmica em relação ao tempo T0 pós-depilação (Figura 5).

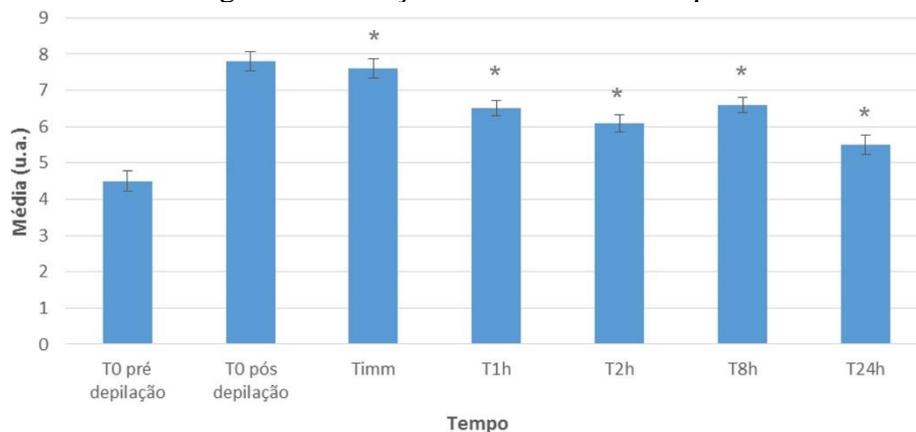
Figura 5: avaliação da perda de água transepidérmica



Colorimetria

A vermelhidão da pele apresentou uma redução significativa nos tempos imediatamente após a aplicação do produto (Timm), e após 1, 2, 8 e 24h da aplicação do produto (T1h, T2h, T8h, T24h, respectivamente) em relação ao tempo T0 pós-depilação (Figura 6).

Figura 6: avaliação da vermelhidão da pele



5 DISCUSSÃO

A pele da região genital externa e virilhas costuma sofrer agressões externas diariamente, como fricção com o vestuário, e também agressões secundárias a hábitos de autocuidado, como a depilação. Devido à proximidade com a genitália interna, atenção extra é necessária na escolha de produtos de uso tópico, para evitar alterar a fisiologia local. Fatores como hidratação da pele, manutenção da microbiota e do pH vaginal são importantes para preservar esse delicado bioma. A preservação da função de barreira também é fundamental na

manutenção da saúde do órgão e análises subjetivas de percepção sensorial sempre são considerações importantes na escolha dos produtos cosméticos femininos.

A avaliação da microbiota bacteriana através da contagem de *Bacillus de Döderlein* e a avaliação do pH vaginal revelaram ausência de modificação entre os tempos pré-depilação (T0 pré-depilação) e após 28 dias da depilação (T28), conforme figuras 1 e 2. Por não afetar esses parâmetros, o produto testado, portanto, mostrou-se adequado para preservação do equilíbrio do ecossistema cutâneo.

É importante ressaltar que as participantes foram orientadas a aplicar o creme hidratante calmante apenas na região genital externa, pois o mesmo não é indicado para uso intravaginal. Devido à proximidade das estruturas e à preocupação com a alteração do pH e da microbiota vaginal, considerou-se o risco de haver contato do creme com a mucosa vaginal e por esse motivo, foi realizada esta avaliação.

O questionário de eficácia percebida pelo participante mostrou uma tendência de melhora dos sintomas desencadeados pela depilação, ao longo das 24 horas de avaliação. Os atributos ardência e vermelhidão apresentaram pioras mais acentuadas no T0 pós-depilação, e posteriormente melhoraram expressivamente, chegando a 100% de respostas “1” na escala, ou seja, ausência de ardência e vermelhidão, no T24 horas, conforme figura 3. O quesito coceira não teve piora após a depilação, diferente dos demais itens, porém também apresentou discreta melhora nas avaliações das horas seguintes do estudo. Essa análise permite concluir que o produto testado foi efetivo na redução dos sintomas de desconforto cutâneo após a depilação com cera, referidos pelas participantes.

A análise da hidratação da pele, através do equipamento Corneometer® CM 825, mostrou que a quantidade de água no estrato córneo aumentou significativamente no T0 e manteve-se superior ao T0 pré-depilação, em todas as avaliações feitas ao longo das 24 horas (figura 4). Assim, confirma-se que o produto testado é efetivo na hidratação da pele da região genital externa, e que esse benefício se mantém por 24 horas.

A avaliação da função de barreira cutânea, feita através da medida de perda de água transepidérmica (TEWL), mostrou que houve um aumento significativo na perda de água após a depilação (T0 pós-depilação), e que essa perda retorna gradativamente aos valores pré-depilação após o uso do produto, nas horas subsequentes (figura 5). Isso permite concluir que o produto testado age como um facilitador para a recuperação da função de barreira cutânea após agressões como a depilação.

Por fim, a colorimetria foi usada para avaliação do eritema na pele local. Em T0 pós-depilação, a pele apresenta o valor máximo de eritema. Nas medidas nas horas a seguir, após o uso do produto, ocorre uma tendência de melhora desse parâmetro, confirmando o potencial calmante da formulação (figura 6).

6 CONCLUSÃO

O creme hidratante calmante cujos testes foram mostrados neste artigo, que é específico para a área íntima feminina, teve excelente desempenho em testes in vivo, comprovando assim sua segurança e eficácia em peles sensibilizadas pelo procedimento de depilação a cera.

REFERÊNCIAS

- 1- Sangiorgi MLPO, Lara LAS, Lerri MR, Ferriani RA, Romão APMS. The Preference of Women and Men Regarding Female Genital Depilation. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2017 Sep;39(9):488-495
- 2- Demaria AL, Flores M, Hirth JM, Berenson AB. Complications related to pubic hair removal. *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Jun; 210(6): 528.e1–528.e5
- 3- Kalia N, Singh J, Kaur M. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2020; 19:5
- 4- Alvisi S et al. Vaginal health in menopausal women. *Medicina (Kaunas)*. 2019 Oct; 55(10): 615
- 5- Palacios S. Non-hormonal approaches for the treatment of vulvovaginal atrophy: the choice between hyaluronic acid and glycerin. *Gynecol Endocrinol*. 2020 Oct;36(10):847-8
- 6- Al-Ghazzewi FH, Tester RF. Biotherapeutic agents and vaginal health. *Journal of Applied Microbiology*. 2016 Jul;121(1):18-27
- 7- Wagner S, Suter A, Merfort I. Skin penetration studies of Arnica preparations and of their sesquiterpene lactones. *Planta Med*. 2004 Oct;70(10):897-903
- 8- Chiu A, Kimball AB. Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. *Br J Dermatol*. 2003 Oct;149(4):681-91
- 9- Cerio R, Dohil M, Jeanine D, et al. Mechanism of action and clinical benefits of colloidal oatmeal for dermatologic practice. *J Drugs Dermatol*. 2010 Sep;9(9):1116-20
- 10- International Conference for Harmonization (ICH). Guideline for good clinical practice E6(R2). 2016. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e-6-r2-guideline-good-clinical-practice-step-5_en.pdf. Acessado em: julho de 2021
- 11- Organización Panamericana de la Salud. Buenas Prácticas Clínicas: Documento de las Américas, 2005
- 12- Melo M, Campos PMBGM. Application of biophysical and skin imaging techniques to evaluate the film-forming effect of cosmetic formulations. *International Journal of Cosmetic Science*. 2019; 41
- 13- Fossa Shirata MM, Campos PMBGM. Influence of UV filters on the texture profile and efficacy of a cosmetic formulation. *Int J Cosmet Sci*. 2017;39(6):622-628

14- Gui M, Kan J, Qu D, Chen Y, Luo R, Liu Y, et al. Instrumental Evaluation of the Depigmenting Efficacy of an Oral Supplementation Containing Peptides and Chrysanthemum Extract for the Treatment of Melasma. *Cosmetics* 2017; 4:42