

UNIVERSIDADE DE SOROCABA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO
E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS TECNOLÓGICOS E
AMBIENTAIS

Célia Marisa de Oliveira Ramos

PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM
***MICROBLADING* NA ÁREA DE SOBRANCELHAS: ESTUDO**
CLÍNICO RANDOMIZADO

ORGANIC AND INORGANIC PIGMENTS USED IN EYEBROWS'
MICROBLADING: RANDOMIZED CLINICAL STUDY

Sorocaba/SP

2019

Célia Marisa de Oliveira Ramos

**PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM
MICROBLADING NA ÁREA DE SOBRANCELHAS: ESTUDO CLÍNICO
RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para Exame de Defesa do Mestrado em Processos Tecnológicos e Ambientais, da Universidade de Sorocaba.

Orientadora: Profa. Dra. Valquíria Miwa Hanai Yoshida

Sorocaba/SP

2019

Ficha Catalográfica

R142p Ramos, Célia Marisa de Oliveira
Pigmentos orgânicos e inorgânicos utilizados em microblading na
área de sobrancelhas : estudo clínico randomizado / Célia Marisa de
Oliveira Ramos. – 2019.
99 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Valquíria Miwa Hanai Yoshida
Dissertação (Mestrado em Processos Tecnológicos e Ambientais)
– Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2019.

1. Pigmentos. 2. Tatuagem. 3. Maquiagem (Técnica). 4. Beleza
feminina (Estética). 5. Estética. I. Yoshida, Valquíria Miwa Hanai,
orient. II. Universidade de Sorocaba. III. Título.

Célia Marisa de Oliveira Ramos

**PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM
MICROBLADING NA ÁREA DE SOBRANCELHAS: ESTUDO CLÍNICO
RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para Exame de Defesa do Mestrado em Processos Tecnológicos e Ambientais, da Universidade de Sorocaba.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Valquíria Miwa Hanai Yoshida

Programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais da
Universidade de Sorocaba

Profa. Dra. Yoko Oshima Franco

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de
Sorocaba

Prof. Dr. Waldemar Bonventi Júnior

Programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais da
Universidade de Sorocaba

Carinhosamente dedico este
trabalho aos meus queridos funcionários
Vanessa Senchuk e Kelly Karoline Santos
Faria

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado a vida e consequentemente tornar-me uma pessoa digna, lutadora e vencedora.

Aos meus familiares que eu tanto amo, por serem resilientes à minha ausência nos momentos de convívio; ao meu amado esposo Paulo Ferreira de Ramos, por ter acompanhado e colaborado com atividades nos compromissos pessoais e profissionais, possibilitando-me tempo para a integralidade nos estudos, à paciência da filha querida, Délie Stephanie de Oliveira Ramos, pela compreensão dos meus queridos sogros Vicente Manuel de Ramos, que infelizmente partiu antes da conclusão desse trabalho, e da Edite Ferreira de Ramos; à querida Eliet M. da Silva pelo carinho, dedicação e cuidados à minha pessoa, à família e ao meu lar.

Sou profundamente grata aos clientes do Visagismo IBCélia pela compreensão da minha ausência durante o período do curso; à minha equipe de trabalho do VIBC que desenvolveu brilhantemente as atividades profissionais na minha ausência, em especial à Vanessa Senchuk e Kelly Karoline S. Faria.

Um agradecimento especial ao querido Prof. Me. Pedro Zille que oportunizou na vivência acadêmica.

À Uniso por possibilitar a realização do mestrado ao Programa de Mestrado em Processos Tecnológicos e Ambientais.

Deixo aqui meus agradecimentos pelo fomento a esta pesquisa. À minha querida orientadora, Profa. Dra. Valquíria Miwa Hanai Yoshida, motivadora e incentivadora, que acreditou e fez real este momento de vitória.

Agradeço também ao Prof. Dr. Waldemar Bonventi Junior e a Profa. Dra. Yoko Oshima Franco, pela contribuição no método de análise, e aos colaboradores com a prática do Teste Ames Prof. Edson Hideaki Yoshida e Débora Antunes Neto.

Ao corpo docente do curso de mestrado, agradeço pelos ensinamentos e valiosos esclarecimentos dedicados em aula.

A Andrea Martins da indústria de pigmentos Mag Color Gold da empresa Mag Estética e Renata Barcelli da indústria de pigmentos RB Kollors da Empresa Electric Ink agradeço por nos apoiarem e colaborarem com os pigmentos testados.

Meu muito obrigado a todos que direta ou indiretamente prestaram apoio durante a elaboração deste trabalho.

“... talvez na minha vida eu tenha sido apenas a ferramenta do meu trabalho, mas no futuro serei a vida no trabalho do meu semelhante...”

Célia Marisa (08/04/2012)

RESUMO

Introdução. A *microblading*, ou tatuagem cosmética, é popularmente conhecida como maquiagem definitiva e é uma prática realizada por profissionais da área da estética, tendo por finalidade corrigir e reparar as sobrancelhas, entre outras áreas, promovendo o embelezamento estético. Com os avanços tecnológicos da área da estética, novos produtos vão surgindo, e cada vez mais a necessidade da regulamentação e fiscalização dos produtos, assim como a comprovação científica dos produtos e serviços. **Objetivo.** Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a fixação cutânea por um período de seis meses de dois pigmentos: orgânico e inorgânico utilizados na *microblading* e a segurança no uso. **Método.** Para o ensaio clínico foram selecionados 36 sujeitos do sexo feminino, aleatorizados em dois grupos, G1 e G2, que receberam intervenções com pigmentos orgânico e inorgânico, respectivamente. A pesquisa foi dividida em cinco etapas: sendo a Etapa I obtenção da autorização do CEP Comitê de Ética e Pesquisa (nº 2.377.084); Etapa II avaliação anamnética; Etapa III intervenção e primeira fotografia digital; Etapa IV fotografia digital após dois meses; Etapa V fotografia após seis meses. Para quantificação da intensidade da cor resultante do *microblading* na região das sobrancelhas foi utilizado o software GIMP® (GNU Image Processing). Nas análises estatísticas dos resultados utilizou-se o teste *t-Student* ($p>0,05$). Para verificar a toxicidade e mutagenicidade dos pigmentos foi utilizado o Teste Ames. **Resultados.** A partir dos resultados quantitativos foi constatado, com 95 % de certeza, que não houve diferença estatística entre a quantidade de cor escura nas imagens, conseqüentemente, entre a durabilidade dos pigmentos. Com a realização do teste Ames, foi possível verificar que os pigmentos testados não apresentam mutagenicidade na concentração comercial estudada. **Conclusão.** Na avaliação cutânea não houve diferença significativa na fixação e durabilidade entre os pigmentos orgânicos e inorgânicos nos tipos de pele estudados, e os pigmentos orgânicos e inorgânicos testados são seguros para o uso em humanos.

Palavras-chave: Micropigmentação. *Microblading*. Tatuagem cosmética. Pigmento orgânico. Pigmento inorgânico.

ABSTRACT

Introduction. The microblading, or cosmetic tattoo, is popularly known as definitive makeup and is a practice performed by professionals in the area of aesthetics, with the purpose of correcting and repairing eyebrows, among other areas, promoting aesthetic beautification. With technological advances in the area of aesthetics, new products are emerging, and increasingly the need for regulation and inspection of products, as well as scientific proof of products and services. **Goal.** This study aimed to evaluate the skin fixation of the organic and inorganic pigments used in microblading and the safety in use, for a period of six months. **Methods.** For the clinical trial, 36 female subjects were randomly assigned to two groups, G1 and G2, who received interventions with organic and inorganic pigments, respectively. The research was divided into five stages: Phase I being obtained from the CEP Ethics and Research Committee (2.377.084); Step II anamnestic evaluation; Stage III intervention and first digital photography; Step IV digital photography after two months; Step V photography after six months. To quantify the color resulting from microblading in the eyebrow region, (GNU Image Processing) software was used. Statistical analysis of the results was performed using the t-Student test ($p > 0.05$). To verify the toxicity and mutagenicity of the pigments, the Ames test was conducted. **Results.** From the quantitative results it was verified, with 95 % certainty, that there was no statistical difference between the amounts of dark color in the images, consequently, between the pigments. With the Ames test, it was possible to verify that the pigments tested did not present mutagenicity in the commercial concentration presented. **Conclusion.** In skin evaluation there was no significant difference in fixation and durability between organic and inorganic pigments in the studied skin types, and the organic and inorganic pigments tested are safe for use in humans.

Keywords: Micropigmentation. Microblading. Cosmetic tattooing. Organic pigment. Inorganic pigment.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

2-AA	2-aminoantraceno
2-AF	2-aminofluoreno
2-AP	2-amino-purina
5-BU	5-bromouracil
A, C, G, T	Bases nitrogenadas (adenina, citosina, guanina e timina)
AFB1	Aflatoxina B1
AMG	Ágar mínimo glicosado
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
AZS	Azida sódica
B[a]P	Benzo[a]pireno
EC50	Concentração efetiva mediana
EI	Etapa I
EII	Etapa II
EIII	Etapa III
EIV	Etapa IV
SEM	Etilmetanossulfato
EP	Efeito proliferativo
EPA	Associação de Proteção Ambiental (<i>Environmental Protection Association</i>)
EV	Etapa V
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
GIMP	<i>GNU Image Processing</i>
His	Histidina
HRMS	Espectroscopia de massa de alta resolução
IM	Índice de mutagenicidade
MeOH	Metanol
Met	Metionina
MMC	Mitomomicina C
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
NG	Nitrosoguanidina
NMR	Ressonância nuclear magnética
NPD	4-nitro-o-fenilenodiamina
P1	Pigmento orgânico
P2	Pigmento Inorgânico
S9	Fração microssomal de fígado de ratos tratados com Aroclor 1254
TA97a, TA98, TA100 e TA102	Linhagens de <i>Salmonella typhimurium</i>
Ura	Uracila

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Tatuagem cosmética - <i>Microblading</i> de sobrancelha.....	26
Figura 2 - Níveis de implantação de pigmento na pele	26
Figura 3 - Estrutura para fotografia digital padronizada	44
Figura 4 - Programa GIMP® (GNU <i>Image Processing</i>).....	46
Figura 5 - Controles negativo e positivo da linhagem TA98 RB Kollors Crescimento de colônias representativas de revertentes (His ⁺) em (A), controle negativo e (B), controle positivo da linhagem TA98 RB Kollors	52
Figura 6 - Controles positivo e negativo da linhagem TA98 RB Kollors seguido pelas diferentes concentrações das substâncias.....	52
Figura 7 - Esquema do Teste de Ames. Método de incorporação em placas com prévia incubação	55
Figura 8 - Diagrama de fluxo do processo através das fases do estudo randomizado paralelo de dois grupos.	59
Figura 9 - Quantidade de participantes identificadas por fototipo da pele em função dos grupos.....	61
Figura 10 - Quantidade de participantes identificadas por tipo de textura da pele em função do grupo.	62
Figura 11 - Registro fotográfico da área de sobrancelhas dos sujeitos de pesquisa alocados para intervenção <i>microblading</i> com pigmentos orgânicos	65
Figura 12 - Registro fotográfico da área de sobrancelhas dos sujeitos de pesquisa alocados para intervenção <i>microblading</i> com pigmentos inorgânicos.....	66
Figura 13 - Análise de fotografia digital pelo programa GIMP, exemplo de sujeito do G1	67
Figura 14 - Análise de fotografia digital pelo programa GIMP, exemplo de sujeito do G2	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxa de reversão espontânea por placa	47
Tabela 2 - Características genotípicas e fenotípicas para o ensaio de Teste de Ames	47
Tabela 3 - Controles positivos das linhagens	53
Tabela 4 - Teste de toxicidade dos pigmentos p1 e p2 em cepas TA98 E TA100	55
Tabela 5 - Síntese da avaliação anamnética.....	60
Tabela 6 - Resultados quali-quantitativos utilizado o programa GIMP adotado para inferir valor numérico a quantidade de pigmento orgânico detectado por fotografia digital	63
Tabela 7 - Resultados quali-quantitativos utilizado o programa GIMP adotado para inferir valor numérico a quantidade de pigmento inorgânico detectado por fotografia digital	64
Tabela 8 - Teste T para amostras independentes - comparação entre <i>microblading</i> com pigmentos orgânicos e inorgânicos na etapa III de análise	69
Tabela 9 - Teste T para amostras independentes - comparação entre <i>microblading</i> com pigmentos orgânicos e inorgânicos na etapa IV de análise.....	70
Tabela 10 - Teste T para amostras independentes - comparação entre <i>microblading</i> com pigmentos orgânicos e inorgânicos na etapa V de análise.....	71
Tabela 11 - Índices de Mutagenicidade (IM) calculados a partir dos valores médios $\pm$ DP das triplicatas do crescimento de colônias revertentes frente às cepas TA97a, TA98, TA100 e TA102 (-S9) – Pigmento Orgânico RB Kollors	73
Tabela 12 - Índices de Mutagenicidade (IM) calculados a partir dos valores médios $\pm$ DP das triplicatas do crescimento de colônias revertentes frente às cepas TA97a, TA98, TA100 e TA102 (-S9).....	74
Tabela 13 - Revertentes / placa, desvio padrão e índice de mutagenicidade (entre parênteses) para as cepas TA98, TA100, TA102 e TA97 a de <i>S.typhimurium</i> após tratamento com várias doses de suspensão de pigmentos “linha RB Kollors”	75
Tabela 14 - Revertentes / placa, desvio padrão e índice de mutagenicidade (entre parênteses) para as cepas TA98, TA100, TA102 e TA97 a de	75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	MERCADO COSMÉTICO E PIGMENTOS	16
2.2	TIPOS DE PIGMENTOS COSMÉTICOS.....	18
2.3	<i>MICROBLADING</i> E PIGMENTOS.....	23
2.4	TÉCNICAS E VARIÁVEIS	28
2.5	<i>MICROBLANDING</i> E FATORES PSICOSSOCIAIS	31
2.6	PELE: CLASSIFICAÇÃO E FOTOTIPO	33
2.6.1	CLASSIFICAÇÃO DOS TIPOS DE PELE.....	34
2.6.2	ALTERAÇÕES CUTÂNEAS	35
2.6.3	FOTOTIPO DE PELE	36
3	OBJETIVOS	38
3.1	OBJETIVO DESFECHO PRIMÁRIO	38
3.2	OBJETIVO DESFECHO SECUNDÁRIO	38
4	MATERIAL E MÉTODO	39
4.1	MATERIAL	39
4.2	TAMANHO DA AMOSTRA E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
4.3	DESENHO EXPERIMENTAL	40
4.4	POPULAÇÃO DE ESTUDO	41
4.4.1	RISCOS E BENEFÍCIOS	42
4.4.2	CRITÉRIO DE SUSPENSÃO ENCERRAMENTO DA PESQUISA	43
4.5	INTERVENÇÃO DO ESTUDO.....	43
4.6	AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS	43
4.6.1	FICHA ANAMNÉTICA.....	43
4.6.2	FOTOGRAFIA DIGITAL PADRONIZADA.....	44
4.6.3	ANÁLISE DA FOTOGRAFIA DIGITAL	44
4.6.4	TESTE AMES – TESTE DE TRIAGEM	46
4.6.5	PROTOCOLO DE ENSAIO PARA TESTE AMES	54
4.6.6	ANÁLISE DOS RESULTADOS PARA TESTE AMES	56
5	RESULTADOS	58
5.1	DIAGRAMA DE FLUXO CONSORT 2010	58
5.2	DESCRIÇÃO DA AVALIAÇÃO ANAMNÉTICA EM FUNÇÃO DOS GRUPOS	60
5.3	ANÁLISE DA FOTOGRAFIA DIGITAL PADRONIZADA.....	62
5.4	TESTE AMES	71

6	DISCUSSÃO.....	76
7	CONCLUSÃO.....	79
	ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ...	83
	ANEXO B - SOLICITAÇÃO DOS ENSAIOS PREVISTOS NA RESOLUÇÃO RDC 55/2008, REFERENTE AOS PRODUTOS IMPLANTAVEIS PARA DERMOPIGMENTAÇÃO DEFINITIVA	86
	ANEXO C - DISPÕE SOBRE O REGISTRO DE PRODUTOS UTILIZADOS NO PROCEDIMENTO DE PIGMENTAÇÃO ARTIFICIAL PERMANENTE DA PELE, E DÁ OUTRAS PROVIDÊNCIAS.	87
	APÊNDICE A - MODELO DA FICHA ANAMNÉTICA	88
	APÊNDICE B - MODELO DO TERMO DE RESPONSABILIDADE	90
	APÊNDICE C - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO ORGÂNICO ETIII.....	94
	APÊNDICE D - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO ORGÂNICO ETIV	95
	APÊNDICE E - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO ORGÂNICO ETV	96
	APÊNDICE F - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO INORGÂNICO ETIII	97
	APÊNDICE G - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO INORGÂNICO ETIV.....	98
	APÊNDICE H - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO INORGÂNICO ETV	99

1 INTRODUÇÃO

Desde o passado o ser humano sempre buscou a valorização da aparência física. Com os efeitos da globalização, cuidar-se não é mais encarado como um simples ato de vaidade, mas sim como um requisito básico para a saúde e bem-estar psicossocial, além de embelezar, reparar, tratar, proteger e harmonizar a aparência (SOAIGHER; ACENCIO; CORTEZ, 2016). No contexto psicossocial pode reintegrar e recuperar a autoestima do indivíduo, através das correções e reparos estéticos.

Nas eras modernas contemporânea da história da humanidade, a tatuagem era interpretada, por vezes, como um símbolo de marginalização. Porém, atualmente com os avanços tecnológicos e a tendência do modismo, a tatuagem é interpretada como forma de expressão e de arte corporal, sendo usados por celebridades e cidadãos comuns dentro da sociedade (BARACUHY, 2015).

Com a evolução tecnológica e as mudanças na área da estética, cada vez mais surgem novos produtos e procedimentos de beleza, sendo necessária a regulamentação dos produtos. A partir de 2008 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme RDC 55/2008, regulamenta o registro com exigências, alterações e adequações que permitem a segurança e qualidade dos produtos para os procedimentos desses serviços (BRASIL, 2008).

Paralelo a esse mercado, cresce a demanda por profissionais com conhecimentos específicos, exigindo cada vez mais estudo e profissionalização na área. O crescimento da área de estética é tão real que, em Janeiro de 2012, em forma de Lei, foi concretizado o reconhecimento no Brasil dos profissionais da área de estética, entre eles: cabeleireiro, barbeiro, esteticista, manicure, pedicure, depilador e maquiador (BRASIL, 2012, LEI Nº 12.592/12), e em abril de 2018, em forma da Lei, o reconhecimento das profissões de Esteticista, que compreende sendo obrigatório o diploma da estética para atuação profissional (BRASIL, 2018, LEI Nº 13643/18).

A tatuagem cosmética pode contribuir positivamente com relação à aparência do ser humano, proporcionando além do embelezamento das sobrancelhas, o reparo e reconstrução delas por perdas parcial ou total por problemas psicossomáticos, metabólicos, traumáticos, entre outros. Os produtos que apresentam fórmulas regularizadas para comercialização tendem a garantir a segurança, qualidade, durabilidade e fixação nos resultados dos trabalhos realizados.

A falta de especialização técnica e pesquisas na área da tatuagem estética pode gerar um ambiente de dúvidas para os profissionais com pouca fundamentação técnica, comprometendo o trabalho realizado e o resultado da harmonia e embelezamento estético, afetando a autoestima do indivíduo.

Partindo do princípio de que os pigmentos orgânicos e inorgânicos, devido as suas constituições químicas, são metabolizados de formas diferentes pelo organismo humano na epiderme profunda, supõe-se que o processo de fagocitose resulte em durabilidade variável da pigmentação na pele para diferentes tipos de pigmentos, além de níveis de toxicidade variados. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar através de fotografia digital a absorção cutânea de pigmentos orgânicos e inorgânicos, em diferentes tipos de pele com *microblading* na região das sobrancelhas, durante um período de seis meses após a intervenção, além de avaliar a mutagenicidade destes pigmentos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MERCADO COSMÉTICO E PIGMENTOS

Segundo a Associação da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos ABIHPEC (2018), nos últimos dois anos o país vem passando por problemas políticos e econômicos que afetaram o desenvolvimento e o crescimento. Em consequência da crise, observam-se muitas empresas fechando ou migrando para outros países em busca de melhores condições de investimento, agravando a questão do desemprego. Com esse cenário, a população tende a buscar por conhecimentos técnicos específicos, com baixo investimento e menor tempo de capacitação.

A busca por um negócio próprio para sair da situação de desemprego, faz surgir novos consumidores, fabricantes e prestadores de serviços, mantendo um ambiente de otimismo e levando a um crescimento no setor de higiene e perfumaria cosmética desde 2017, conforme (ABIHPEC, 2018).

O mercado global de pigmentos cosméticos deverá chegar em 2022 em US\$ 790 milhões com taxa de crescimento médio anual de 7,5 %, pela demanda por cosméticos em economias da Índia, China e Brasil e pelo aumento das importações de pigmentos dos Estados Unidos para a região da Ásia-Pacífico (INNOVATION, 2018).

O Brasil dispõe de uma rigorosa regulamentação para a política ambiental e descarte de materiais, mas o custo alto dessa política ambiental torna inviável a instalação de fábricas, fazendo que elas invistam em outros países com menos restrições para instalar novas fábricas do setor de pigmentos. Para suprir o mercado dos produtos que utilizam corantes e pigmentos, a primeira opção tem sido a importação da China e Índia. A elevação dos preços destes produtos ocorre por conta do aumento rápido do petróleo e dos metais, que são a base de vários desses insumos (CRQ, 2011).

Com esse crescimento as grandes empresas de cosméticos e tintas encontram dificuldade em contratar profissionais especialistas em cores para atuar na área de análise de pesquisa e desenvolvimento de produto das tendências. Para o desenvolvimento de paleta de cores o especialista deve atender e compreender as necessidades do consumidor, encaminhando essas referências para os laboratórios químicos que desenvolvem os pigmentos. Para suprir essa necessidade as empresas

normalmente capacitam esses profissionais por falta de especialista na área (SOARES, 2016).

Os pigmentos servem para dar cor aos cosméticos, também são utilizados nas indústrias de alimentos, farmacêuticas, de pigmentos cerâmicos, de plásticos, de tinta de parede, entre outros. O que muitos desconhecem é que esses pigmentos fazem parte da classificação dos colorantes, ou seja, substâncias que conferem cor a um determinado material e que subdividem em dois grupos chamados de corantes e pigmentos (SARON; FELISBERTI, 2006).

Cada país tem a sua própria legislação e os fornecedores devem usar os pigmentos mundialmente aceitos. No Brasil, os pigmentos cosméticos devem constar nas listas de corantes e pigmentos permitidos pela (ANVISA), conforme a RDC 44, de 09/08/2012. Essa lista classifica quanto ao uso, de um a quatro: sendo categoria um, recomendada para usos cosméticos; categoria dois, para produtos que não sejam aplicados na área dos olhos; categoria três, para produtos que não sejam aplicados na mucosa; e, categoria quatro, para produtos que tenham breve contato com pele e cabelos, ou seja, que devem ser enxaguados. Nessa lista restritiva entram todas as moléculas de pigmentos e corantes que são proibidas principalmente na Europa (NEVES, 2018).

Nos Estados Unidos os pigmentos usados nas tintas para tatuagem intradérmica são considerados de uso cosmético pela *FDA (Food and Drug Administration)*. Lá esses aditivos coloridos exigem aprovação na pré-comercialização de acordo com a lei federal de alimentos, medicamentos e cosméticos. Alguns aditivos de cor aprovados em uso cosmético, quando injetados através da pele, como na prática da tatuagem, sofrem regulamentação pela jurisdição local (FDA, 2012).

As tatuagens de maneira geral são realizadas simplesmente por injeção de corantes na pele usando agulhas sólidas. A aplicação de corantes não regulamentados causa riscos à saúde em humanos, mas nem sempre o tatuador e paciente tatuado, tem as informações sobre o composto introduzido na pele (VASOLD *et al.*, 2008).

No mercado é possível encontrar tintas adulteradas com aditivo industrial para o uso de tintas de impressoras ou para automóveis, sendo utilizado em tintas de tatuagem não aprovados para aplicação na pele. Após diversas informações e relatos, a comunidade científica manifestou preocupação com os pigmentos utilizados em tintas de tatuagem, levando a FDA tomar ações de proteção a saúde pública através

de investigação da segurança e realização de pesquisas sobre tintas de tatuagem (FDA, 2012).

A falta de normalização efetiva sobre esses aspectos gera controvérsia de informações e contribui com ambiente de incertezas dos direitos e segurança para exercer a função de forma lícita.

2.2 TIPOS DE PIGMENTOS COSMÉTICOS

O uso de pigmentos tem sido um grande aliado através dos séculos, para embelezar, corrigir ou reparar, valorizar ou mudar completamente o visual das pessoas. Com a evolução tecnológica os produtos de maquiagens estão sendo desenvolvidos com multifuncionalidade de proteção e efeito decorativo que melhoram as características de dispersão, aderência e estabilidade dos pigmentos, proporcionando benefícios de tratamento e cor em um único produto, como, por exemplo, os pigmentos tratados com aminoácidos vegetais que hidratam a pele (FRANQUILINO, 2016).

Entre os produtos cosméticos desenvolvidos para uso tópico que promovem efeitos de embelezamento e de proteção, tem-se os pigmentos que dão cor ao produto e transferem cor ao substrato, ao ser aplicado, como o caso das maquiagens que colore a pele, olhos, lábios e esmaltes que dão cor as unhas (NEVES, 2018).

Os corantes podem ser translúcidos ou coloridos quando utilizados em produtos cosméticos, tais como, perfumes, sabonetes e brilhos labiais. Quando utilizados em formulação de produtos de colorações capilares são subdivididos em duas categorias: corante por deposição e por oxidação. Como corantes por deposição podemos citar as máscaras matizadoras para os cabelos, que por se tratar de moléculas grandes não oferecem durabilidade da cor; e como corantes por oxidação, que através de reações químicas revelam cor nos cabelos de forma “permanente” (FRANQUILINO, 2016).

Antigamente os pigmentos eram extraídos de seres vivos ou de plantas, a partir do século XIX começaram a ser produzidos sinteticamente por empresas especializadas, garantindo a qualidade e segurança desses produtos ao consumidor (NEVES, 2018).

De acordo com o CRQ (2011), a semelhança entre pigmentos e corantes é que ambos são elementos químicos e servem para dar coloração com a finalidade de

produzir sensações visuais ao usuário e utilizados em diversas situações em e procedimentos nas indústrias de alimentos, farmacêuticas, de cosméticos, entre outros. Os pigmentos utilizados podem ser classificados em orgânicos ou inorgânicos, sendo que os orgânicos tem os elementos carbono e hidrogênio na sua estrutura e os inorgânicos apresentam elementos de minérios. Os compostos inorgânicos que se destacam na área cosmética são o dióxido de titânio, que é o pigmento branco, os pigmentos inorgânicos coloridos que são os óxidos de ferro e possuem tons desde amarelo, vermelho e preto os óxidos apresentam ótima resistência à luz e também são utilizados normalmente em plásticos, tintas, fibras e construção civil.

Conforme esclarece Saron e Felisberti (2006), os chamados aditivos que conferem cor são denominados colorantes e podem ser classificados em dois grupos de substâncias: os pigmentos e os corantes e a diferença está no tamanho da partícula e na solubilidade no meio em que é inserido. Os pigmentos tem o tamanho da partícula maior e são insolúveis no meio em que são utilizados (orgânico ou aquoso), e tem por finalidade conferir cor ou cobertura às tintas, enquanto que corantes são moléculas solúveis e são utilizados para conferir cor a um determinado produto ou superfície.

O profissional da área de estética além de dominar as técnicas deve compreender sobre os fundamentos da colorimetria, conhecer as principais diferenças dos colorantes, facilitando a compreensão da utilização nas diversas situações e processos onde pode ser empregado. Verifica-se que existem duas diferenças importantes entre pigmentos e corantes: a oxidação causada pela ação da luz e intempéries, e o poder tintorial relacionado a quantidade de pigmento ou corante necessária para se obter a cor desejada. No que se refere à oxidação, o pigmento tem maior resistência. No que diz respeito ao poder tintorial, o corante é superior ao do pigmento, sendo necessária uma quantidade maior de pigmento para se obter a cor proporcionada por um corante (CRQ, 2011).

Os corantes não são abrasivos, tem capacidade de absorção luminosa alta e permitem que polímeros transparentes não percam suas propriedades. Porém, a mesma solubilidade confere aos corantes a capacidade de migrar para a superfície do material, causando mudanças na coloração do produto e, ainda, podendo sublimar e manifestar toxicidade. O valor de mercado dos corantes normalmente é mais alto que os dos pigmentos. Já os pigmentos não migram, não sublimam, são mais baratos e apresentam toxicidade baixa, porém são geralmente abrasivos, difíceis de dispersar e quando incorporados, tornam o material opaco (SARON; FELISBERTI, 2006).

Frente ao mercado, os pigmentos são usados nas indústrias de tintas, plásticos, cerâmicos e cosméticos, com o objetivo de proporcionar proteção e efeitos decorativos. Os corantes também são usados na indústria têxtil, nas indústrias de artefatos de couro, papel, alimentos, cosméticos, tintas e plásticos. Dentre os corantes, os derivados de anilina são utilizados para colorir tecidos, madeiras e outros produtos. Os colorantes são retidos no material por adsorção, dissolução, retenção mecânica ou por ligações químicas iônicas ou covalentes. Os colorantes são comercializados previamente dispersos, prontos para o uso, já beneficiados com aditivos, estabilizantes e outros componentes. Eles são concentrados na forma líquida ou em pasta, embora sejam fornecidos em pó, cabendo à indústria fazer sua moagem, dispersão ou dissolução até o ponto desejado para a aplicação no material ou substrato (CRQ, 2011).

Conforme o guia técnico ambiental para tintas e vernizes da Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP, 2006), os corantes se fixam na superfície que vão colorir através de mecanismos de adsorção, ou ligações iônicas e covalentes, enquanto que os pigmentos são dispersos no meio (tinta) formando uma dispersão relativamente estável, havendo três grandes categorias de pigmentos: (I) pigmentos inorgânicos, (II) pigmentos orgânicos e (III) pigmentos de efeito; entre os (I) pigmentos inorgânicos: dióxido de titânio, amarelo óxido de ferro, vermelho óxido de ferro, cromatos e molibdatos de chumbo, negro de fumo, azul da prússia, etc.; os (II) pigmentos orgânicos: azul flatocianinas azul e verde, quinacridona violeta e vermelha, perilenos vermelhos, toluidina vermelha, aril amídicos amarelos, etc.; e os (III) pigmentos de efeito: alumínio metálico, mica, etc.

Os colorantes normalmente podem ser classificados e subdivididos em orgânicos e inorgânicos ou sintéticos e naturais, sendo que o composto orgânico-tem mais brilho à tinta e transparência, menos densa, porém menor resistência à luz, a cor é mais estável. O composto orgânico colorido deve apresentar características como estabilidade térmica, química, mecânica e apresentar condições estáveis para serem empregadas no processamento do polímero. É formado por duas estruturas químicas que definem o grupo dos colorantes orgânicos: o do tipo azo que tem em comum o grupo ($-N=N-$) e os policíclicos, apresentam em sua estrutura química grupamentos cromóforos (azo, nitroso, nitro, entre outros) e auxocromos (hidroxila, aminas etc.). Os colorantes policíclicos são caracterizados por sistemas de anéis aromáticos condensados ou heterocíclicos e são subdivididos em flatocianinas, quinacridonas,

perilenos e perilonas, dicetopirróis e pirróis, tioíndico, antrapirimidinas, flavantronas, pirantronas, antrantonas, dioxazinas, triarilcarbonil e quinoflatonas. Dentre os pigmentos orgânicos mais utilizados estão as flatocianinas, os monoazóicos, diazóicos e dioxazina (SARON; FELISBERTI, 2006).

No que diz respeito às matérias primas orgânica estão as de origem naturais dos vegetais (extratos de centelha asiática, alecrim, etc.), de animais (colágeno, extrato de timo, etc.) e de minerais (vaselina, óleo mineral, etc.); e as de origem sintética estão as provenientes do ácido salicílico, cânfora, etc.; e as de origem semissintética estão às substâncias naturais que, por necessidade de melhorar sua ação, foram modificadas em laboratórios, como a forma lipossolúvel da vitamina C (REBELLO, 2005).

Os pigmentos orgânicos de origem animal (melanina), vegetal (carotenos), mineral (negro-de-fumo) e lacas (corantes transformados em pigmentos pela cobertura de certos substratos, como o sulfato de bário e de cálcio) conforme Rebello (2005) são utilizados no embelezamento e reparo estético da tatuagem cosmética, pois a insolubilidade destes garante que os pigmentos não se diluam nos líquidos corporais, tornando possível o implante dos pigmentos na pele (GIARETTA, 2016).

No passado os pigmentos orgânicos eram extraídos da natureza como, por exemplo, a cor verde podia ser obtida de algumas plantas, a cor vermelha era extraída de um besouro chamado cochonilha, e o preto eram extraídos tanto do carvão como da tintura proveniente de um determinado tipo de polvo, mas havia polêmica sobre os perigos e riscos da incompatibilidade ao ser implantado na pele. O processo de produção para transformação em suspensão líquida envolve a mistura de espessantes, emolientes, dispersantes e às vezes álcool, que age como ajuste antimicrobiano (GIARETTA, 2016).

Os colorantes poliméricos pertencem a uma nova classe de matéria reconhecida e produzida como alternativa para corrigir deficiências particulares dos corantes e pigmentos, tais como, migração, sublimação sólida, custo e toxicidade (SARON; FELISBERTI, 2006).

Os colorantes inorgânicos de origem de óxidos metálicos (de ferro, titânio, cobre, cromo), metais em pó (ferro, alumínio), cromatos de chumbo e ferrocianetos férricos (REBELLO, 2005), tem poder de tingimento alto, estabilidade química alta e, frequentemente, é combinada com colorantes orgânicos (CRQ, 2011).

De acordo com Saron e Felisberti (2006), a desvantagem dos corantes inorgânicos é a limitação da gama de tonalidade de cores. Os colorantes inorgânicos são representados por óxidos, cromatos e sulfatos de metais e quase todos são capazes de formar substâncias coloridas, porém nem todos podem ser utilizados como colorantes, por em algumas situações poder apresentar problemas na aplicação. Atualmente os pigmentos coloridos com compostos contendo Mo (molibdênio), Cd (cádmio), Fe (ferro), Cr (cromo), Co (cobalto) e Ni (níquel) estão em desuso como colorantes e sendo substituídos por pigmentos orgânicos que são menos tóxicos. Os pigmentos inorgânicos se dividem em sintéticos e naturais; os inorgânicos naturais são geralmente óxidos e possuem menor cobertura, maior dificuldade de dispersão e menor poder tintorial, já os inorgânicos sintéticos, por serem produzidos em um processo industrial controlado, tem algumas propriedades melhoradas, proporcionando maior cobertura, uniformidade na cor, poder tintorial superior e melhor dispersão, o que resulta em estabilidade alta na aplicação (SARON; FELISBERTI, 2006).

Vasold e colaboradores (2008) realizaram uma extensa análise de um grande número de compostos de tatuagem. Os resultados mostraram que a maioria dos compostos de tatuagem disponíveis comercialmente atualmente são azo pigmentos ou compostos policíclicos, classificados por sua constituição química. Além de tatuagens coloridas, das quais principalmente os pigmentos vermelhos causam muitas reações alérgicas, as cores negras são muito utilizadas. Estes últimos consistem em negro de carbono ou subprodutos da produção de fuligem. A fabricação de negro de fumo envolve a combustão de hidrocarbonetos em fase de vapor e compostos orgânicos semivoláteis, como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Durante séculos, o negro de fumo foi utilizado nas indústrias de tinta de impressão, pintura e fabricação de laca. No entanto, ao longo dos últimos 60 anos tem sido utilizados, principalmente, como enchimento de reforço na indústria da borracha, particularmente no fabrico de pneus para veículos. “Em 1995, um grupo de trabalho convocado pela Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (IARC) concluiu que o negro de fumo é possivelmente carcinogênico para humanos (Grupo 2B)” (VASOLD *et al.*, 2008).

2.3 MICROBLADING E PIGMENTOS

Com a evolução tecnológica e o crescimento do mercado na área da estética cada vez mais surgem novos consumidores, fabricantes e prestadores de serviços e os serviços de tatuagem cosmética vem se popularizando nos tratamentos para o embelezamento e correção estética (CUYPER, 2008).

No passado, a tatuagem podia ser encarada como um símbolo de marginalização; hoje, ela é interpretada como forma de expressão e arte corporal, sendo usados por celebridades, famosos e comuns dentro da sociedade (PÉREZ, 2006).

As tatuagens podem expressar uma forma de comunicação, causar reação, sensação ou sentimento pelo que vemos e interpretamos, no contexto social pode ser expressa de forma cultural, religiosa, rituais, decorativa, status, proteção, coragem ou para marcar criminosos, assim como influenciar os diversos aspectos da vida humana (PÉREZ, 2006).

A tatuagem na contemporaneidade adquiriu uma nova forma de ser assumida e de ser praticada socialmente. É cada vez mais frequente e corriqueiro ver corpos tatuados em distintos setores sociais, sem restrições (ou poucas existindo) de gênero, idade ou *status*. É evidente que a tatuagem deixou de ser uma prática exclusiva da marginalidade e começou a inserir-se em novos contextos sociais, ganhando outros significados (PÉREZ, 2006, p. 179-206).

Independente de padrões e de classes sociais, a tatuagem cosmética vem sendo utilizada em diversos aspectos, sejam elas por satisfação de embelezamento, reparos estéticos ou necessidades pessoais. A tatuagem cosmética permite facilidade e praticidade na economia do tempo ou pela falta da coordenação motora em aplicar rotineiramente maquiagens. Outras necessidades são da reconstrução pós-cirurgia da mama e face, camuflagem da pigmentação natural da pele ou por aqueles que perderam as sobrancelhas devido a alopecia (queda dos cabelos e pelos), podendo ser reconstruída através da tatuagem das sobrancelhas. E independente da razão que ela venha ser realizada a decisão deve ser consciente das informações e dos riscos que podem ocorrer (FDA, 2012).

A técnica surgiu do conceito da tatuagem que é implantado gotículas de pigmentos coloridos na camada superficial da derme. Essa prática é realizada por

profissionais da área da estética e tem por finalidade corrigir e reparar esteticamente as sobrancelhas, lábios leporinos, pós-mastectomia (reconstrução de aréolas), camuflagem de cicatrizes, pequenas áreas de vitiligo, calvície, entre outros (CUYPER, 2008).

A variedade de denominações pode confundir as pessoas a realizarem o procedimento de forma equivocada, por desconhecerem os diversos termos e criar uma situação agravante, a quem não pode fazer tatuagem por motivos pessoais ou religiosos. Todos os procedimentos que levam a cor e são implantados pigmentos na pele, com qualquer dispositivo, fazem parte do processo de tatuagem (SPCP, 2018).

O *microblading* ou micropigmentação ou dermopigmentação cutânea foi e até hoje é popularmente conhecido como maquiagem definitiva, termo atualmente em desuso entre os profissionais da área. É também conhecido por outros nomes, tais como, implante dérmico, maquiagem de longa duração, entre outros, sendo o termo correto tatuagem cosmética. Essa prática é realizada por profissionais da área da estética e tem por finalidade corrigir e reparar esteticamente as sobrancelhas promovendo o embelezamento, empoderamento, melhorando a autoestima do indivíduo.

Com o modismo e por força da mídia é possível verificar a forma de divulgação da *microblading* sendo um processo semipermanente, onde os pigmentos atingem a epiderme, camada superficial da pele, mas conforme estudos da anatomia e fisiologia da pele e definição dos padrões da indústria de tatuagem, os pigmentos tatuados e implantados na derme da pele e independente do nível da profundidade que os pigmentos se alojem, não se trata de um processo semipermanente, afirmar o tempo de durabilidade e fixação é inadequado, pois na região da epiderme a renovação celular é ativa e os pigmentos que não atingiram a derme não permanecerão por muito tempo na epiderme, impactando na cor final observada pele (SPCP, 2018).

Os procedimentos de *microblading* são realizados por injeção de corantes na pele usando agulhas sólidas e, por se tratar de uma técnica invasiva, é importante conhecer as leis de cada local (VASOLD *et al.*, 2008).

Para atuar na área o profissional deve dominar as técnicas do *design* de sobrancelhas, as diversas técnicas, fundamentos da colorimetria e saber a diferença entre esses pigmentos e corantes.

O procedimento é realizado com equipamentos específicos chamados dermógrafos com comando elétrico e utilização de agulhas encaixadas em sua

estrutura ou por outro equipamento chamado indutor manual sem comando elétrico, utilizado com lâminas que também se encaixam na sua estrutura. Com o manuseio desses equipamentos é possível implantar o pigmento na camada dérmica por meio físico exógeno, essa região sofre regeneração, pelas células dos queratinócitos, o que faz com que o pigmento implantado tenha uma durabilidade e fixação média de 12 a 18 meses dependendo da técnica aplicada. Após quatro semanas do início do procedimento o cliente paciente deve retornar para um novo retoque onde será corrigido pequenas falhas e depositado mais pigmentos (DELANEY, 2017).

Na região cutânea, que recebe esses pigmentos, é ativado o sistema de defesa imunológico, que reage tentando expulsar esse “corpo estranho” através do sistema linfático, mas essas partículas de pigmentos são insolúveis e grandes demais para a estrutura celular da pele, sendo então fagocitadas (isto é, encapsuladas dentro de uma membrana), isolando os pigmentos que ficam depositados na camada mais profunda da epiderme-derme. Os pigmentos em excesso, que não foram fagocitados no processo de cicatrização, se desprendem em conjunto com células inflamatórias, hemácias, plasma, fibrina, e resíduos epiteliais sobre a superfície epidérmica (crosta), levando a um clareamento de 50 % da pigmentação da cor percebida, muitas vezes ocorrendo falhas na pigmentação cutânea, necessitando um procedimento complementar (retoque) a partir de 20 dias após a primeira aplicação (MARTINS *et al.*, 2009).

A pele após ter recebido os pigmentos na derme (cerca de 1 a 3 mm de profundidade) passa pelo processo de inflamação e transporte linfático, e os pigmentos podem-mudar de localização na fase de cicatrização que acontece em poucos dias (VASOLD *et al.*, 2008).

A tatuagem cosmética – *microblading* Figuras 1 A E B e a tatuagem embora tenham grande semelhança nos procedimentos, são diferentes. A finalidade da micropigmentação tem fins estéticos e a tatuagem tem fins artísticos. A tatuagem também é definida como um tipo de pigmentação exógena implantada na camada dérmica da pele por meio físico com um equipamento elétrico de maior rotação utilizando agulhas acopladas em sua estrutura Figura 2. A implantação do pigmento ocorre na derme e conseqüentemente as células de defesas, os macrófagos, iniciam o trabalho de fagocitar esse corpo estranho, os pigmentos que ficam permanentemente alojados em uma densa rede de colágeno e fibras elásticas, permanecendo lado a lado com nervos, inertes e definitivos (MARTINS *et al.*, 2009).

Figura 1 - Tatuagem cosmética - Microblading de sobrancelha



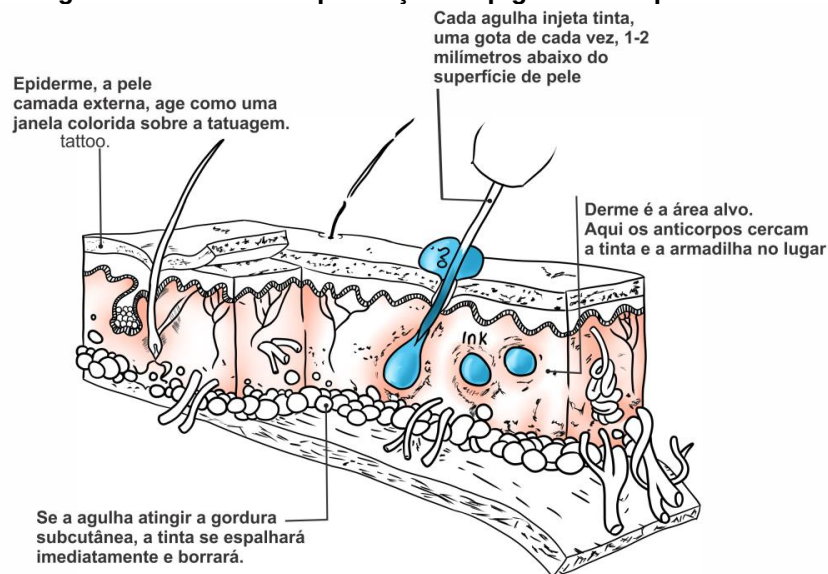
A Área de sobrancelha antes da intervenção



B Área de sobrancelha após a intervenção

Fonte: Elaboração própria

Figura 2 - Níveis de implantação de pigmento na pele



Fonte: Adaptada de <http://lpcp.org/think-before-you-ink/IPCP.ORG> Acesso: 07.Out.2018

Esse pigmento leva a uma cicatriz atrófica, resultado do granuloma formado na pele. O efeito da pigmentação é brilhante e escurecido, resultante da soma de pigmento endógeno com pigmentos mais escuros da pele. A partir de suas diferenciações, conclui-se que cada técnica deve ser aplicada de acordo com o objetivo desejado visando um resultado estético definitivo (MARTINS *et al.*, 2009).

Há indício de que a tatuagem existe há mais de 3500 anos, sendo interpretada em cada época com diferentes contextos, atualmente na estética vem ganhando espaço com a correção, harmonização e embelezamento estético. A tatuagem ao longo dos anos foi interpretada em diferente contexto no aspecto social e cultural,

evoluindo com as diferentes técnicas e processos. No passado os pigmentos eram utilizados na sua forma bruta, com os avanços tecnológicos os pigmentos foram reformulados oferecendo mais segurança ao consumidor final, mas ainda existem muitos pigmentos não regulamentados que oferecem risco de saúde em humanos (VASOLD *et al.*, 2008). Embora tenha ocorrido o crescimento da área da tatuagem e a evolução tecnológica, percebe-se não haver evolução no sentido de ser uma profissão regulamentada e por isso sofre no que diz respeito à legislação, pela falta de fiscalização nos materiais e produtos utilizados, e consequentemente, com a falta de qualificação e especialização na área (MARTINS *et al.*, 2009).

No mercado de tatuagem estética os pigmentos utilizados são os orgânicos e inorgânicos e o que determina a escolha desses produtos, varia de acordo com a identificação e domínio de cada profissional, a rotatividade e a troca constante desses produtos podem afetar negativamente a qualidade do serviço realizado, com relação à cor; exemplo é o resultado da degradação da cor através da oxidação sendo visíveis na pele as alterações de cor em tons de azul, cinza e vermelho, sendo necessário realizar um novo procedimento, e no que diz respeito à durabilidade e fixação na pele (GIARETTA, 2016). A substância (pigmento) vem em forma de tinta de cor, pronta para ser utilizada, mas as moléculas dessa substância são grandes para serem absorvidas pela pele, dessa forma a cor pode ser implantada de forma exógena, através de agulhas ou lâminas inserida na pele, para imitar a aparência de fios de sobrancelhas, delineado, batom ou outros aspectos (FDA, 2015).

Rebello (2005) traz que os pigmentos e corantes tem a finalidade de produzir, sensações visuais ao usuário. Os pigmentos utilizados nos cosméticos de tatuagem são classificados como cosméticos aditivos de cor, são produtos inertes, insolúveis em água e na maioria dos solventes orgânicos (CUYPER, 2008). Os corantes e pigmentos presentes em um cosmético necessitam ser controlados com rigor. No Brasil, os cosméticos são controlados pela Resolução RDC n. 211, de 14 de julho de 2005 (RDC 211 foi revogada e substituída pela RDC n.007/2015), e pela Câmara Técnica de Cosméticos da ANVISA (CATEC/ANVISA), e nos Estados Unidos, o órgão controlador é o *FDA (Food and Drug Administration)*. As normas implementadas pelo *FDA* se baseiam em estudos de cada substância relacionando a sua toxicidade a curto e longo prazo, e são frequentemente adotadas em outros países (GALEMBECK; CSORDAS, 2009).

Os profissionais da área tendem a ter muitas dúvidas com relação a situação dos órgãos regulamentadores, nos Estados Unidos a *FDA* não aprova aditivos de cor para fins de tatuagem, para serem aplicados abaixo da pele através de um mecanismo de entrega (POON *et al.*, 2008).

No Brasil, por se tratar da área da saúde, quem controla os produtos tintas e equipamentos para tatuagem cosméticas é a ANVISA e orienta aos profissionais que ainda não há regulamento que defina a profissão para exercer essa atividade, devendo procurar o conselho regional de medicina e a vigilância sanitário do município ou estado (BRASIL, 2015).

2.4 TÉCNICAS E VARIÁVEIS

Para atuar na área de micropigmentação o profissional além de ser bom designer de sobrancelhas, deve ter conhecimentos multidisciplinares de anatomia facial, colorimetria, biossegurança e recebido treinamento supervisionado, deve consultar os órgãos reguladores do município, para saber das conformidades e exigências de higiene, biossegurança e local adequado para poder exercer a profissão dentro das conformidades (SPCP, 2018).

Os procedimentos de tatuagem estética das sobrancelhas envolvem técnicas, tais como, fio a fio, compacta, esfumada e *microblading*. Para a escolha da técnica adequada é preciso realizar avaliação clínica criteriosa mediante uma ficha anamnese, contendo a identificação do cliente, idade, hábitos do cotidiano, análise geral da pele com relação à cor, fototipo, temperatura, tipo de pele, espessura, textura, questões gerais de saúde e uso de medicamentos, antecedência de procedimentos na área a ser trabalhada, levar em conta o desejo e a opinião do cliente. Após ter todo esse conhecimento é possível analisar a possibilidade da escolha da técnica e o procedimento a ser realizado, considerando ainda a harmonização estética individual (ASCH, 2016).

A durabilidade da *microblading* pode variar de acordo com alguns fatores importantes, tais como, tom de pele, tipo de pele, idade, a técnica com relação à escolha do equipamento, escolha do processo adequado (movimentação da mão sobre o equipamento) no que diz respeito à pressão, angulação (45°, 60° e 90°), estabilidade do equipamento, calibre da agulha, escolha do pigmento. A pele jovem (até 20 anos de idade) tem o processo de regeneração acelerada devido ao

anabolismo ser superior ao catabolismo, a cicatrização acontece de forma rápida, porém a durabilidade da cor micropigmentada na pele madura tende a ser maior devido o processo de regeneração ser mais lento (GIARETTA, 2016).

A escolha do equipamento dermógrafo ou indutor manual dependerá da opção e a capacitação do profissional, devendo ter controle da pressão da mão e aprofundamento da agulha para não ultrapassar 0,8 mm na região das sobrancelhas, pois a região palmar da epiderme chega a 1,6 mm e pálpebras 0,4 mm (GIARETTA, 2016).

A técnica denominada fio a fio tem um efeito de traço, é delicada e exige precisão ao realizar a manobra dos fios. É utilizada para preenchimento de falhas, podendo ser realizado com dermógrafo ou com indutor manual, o movimento é lento e o posicionamento a 90° em relação a pele, para melhor definição da linha. A durabilidade varia entre 6 a 12 meses (MARTINS *et al.*, 2009).

A técnica da esfumada tem um efeito pintura, é mais indicada para sobrancelhas largas e falhas, o resultado é leve, pode ser realizada com o dermógrafo ou indutor manual, o movimento é mais longo, rápido e o posicionamento entre 45° e 60° em relação a pele e sua durabilidade varia entre 12 a 18 meses (MARTINS *et al.*, 2009).

A Compacta também tem um efeito pintura, pode ser realizada com o dermógrafo ou indutor manual, o movimento é curto e rápido e o posicionamento a 45° a 60° em relação a pele e sua durabilidade 12 a 18 meses (MARTINS *et al.*, 2009).

A técnica de *microblading* é realizada com um indutor manual sem nenhum tipo de comando elétrico, o dispositivo é parecido com um bisturi, tendo um orifício para encaixar as lâminas, essas são construídas com várias agulhas acopladas lado a lado, sendo possível escolher a quantidade de agulhas e o formato ideal para o procedimento, de acordo com a necessidade de cada profissional. A técnica é realizada por um pequeno corte na pele não devendo ser sobreposto por mais de duas vezes, atingindo a camada da derme a ideal para o depósito do pigmento, esse procedimento tem menor tempo de durabilidade em relação aos outros tipos de técnicas, por que a quantidade de pigmento implantado na pele é menor. Prever o tempo para ser feito um novo procedimento ou determinar o prazo de durabilidade é uma medida incerta e sem consistência (SPCP, 2018).

Para tornar o procedimento menos doloroso pode ser aplicado um produto anestésico local (CUYPER, 2008).

Tebori significa esculpir a mão (*te* é mão e *hori* ou *horu* é esculpir em algumas línguas orientais) essa técnica de tatuar é antiga e iniciou na Polinésia e vem sendo utilizada pelos japoneses desde o século XIX. Com a evolução, o *tebori* ganhou designer mais delicado e preciso, mas o processo ainda é manual sem fonte de energia elétrica (GIARETTA, 2016).

No passado, a prática da tatuagem com *tebori* era realizada com varetas de bambu com a ponta de metal, a pele era perfurada em local aberto e sem restrição de contaminação. Em algumas regiões do Japão e Polinésia ainda é possível encontrar profissionais que fazem essa prática (CRUZ, 2016).

O procedimento das tatuagens estéticas é comum e satisfatório, mas é preciso estar atento na escolha de um bom profissional que domine as técnicas, compreenda sobre o Visagismo, evitando danos irreparáveis com a imagem após o procedimento. Procurar estar seguro com relação às medidas de biossegurança, quanto ao local e condições de higiene, para não acarretar riscos e complicações que incluem infecções, reações alérgicas, cicatrizes, e insatisfação quanto à cor e forma (CUYPER, 2008).

Existem várias maneiras de medir as sobrancelhas. Normalmente o profissional escolhe aquela que mais se adapta, respeitando o formato do rosto, a harmonização das sobrancelhas naturais ou reconstruindo aquelas que não tem mais pelos com medidas padrão de altura, comprimento e largura. Para um rosto comprido o mais indicado seria a sobrancelha reta para dar a ilusão de um rosto mais curto. Por sua vez, a sobrancelha reta não é indicada para o rosto curto, para faces ovais as levemente anguladas. Para as faces quadradas as curvas expressam mais suavidade. As faces em formato de coração ficam bem com arcos redondos baixos para expressar aparência natural enquanto arqueadas longas para um rosto curto. Já as faces redondas com arcos longos e com ângulos dão a ilusão de alongar o rosto, enquanto as faces com formato de diamante ficam bem com curvas suaves médias. Ao aproximar as sobrancelhas damos a aparência de masculinidade e autoritarismo, e quando espaçamos as sobrancelhas os olhos muito próximos aparentam estar mais distantes (ASCH, 2016).

2.5 MICROBLANDING E FATORES PSICOSSOCIAIS

Toda imagem transmite algum tipo de reação podendo ser um sentimento de atração ou rejeição. Através dessas sensações, emoções, conceitos e intenções podem formar um conjunto de símbolos e signos da linguagem visual. Estar belo nos remete uma sensação de harmonia, leveza, plenitude e bem estar, se não estivermos bem internamente, a beleza externa será apenas uma forma representativa de encarar a vida no contexto social (HALLAWELL, 2009).

O trabalho da *microblading* deve ser exercido por pessoas que dominem o designer das sobrancelhas e tenham conhecimentos sobre as linhas e formas e o que elas podem expressar através da imagem. As sobrancelhas podem remeter o empoderamento e força com relação a imagem, e o dano pode causar consequências da perda da identidade e personalidade, afetando a auto estima do indivíduo (HALLAWELL, 2009).

Com o simples procedimento do designer de sobrancelhas por epilação é possível mudar a linha e a forma do desenho, e dessa maneira a imagem pode contribuir com aspectos positivos ou negativos, com a imagem do indivíduo. Os procedimentos de tatuagem cosmética devem ser realizados de forma intencional, levando em conta que o cliente paciente vai estar com um procedimento de longa duração. Aprender e usar o conhecimento sobre as linhas e formas pode contribuir positivamente, como a imagem pode ou deve expressar, por exemplo; as linhas inclinadas para cima podem expressar vigor, energia e dinamismo, linhas inclinadas para baixo, são características de pessoas melancólicas, as linhas verticais são de estrutura e controle, enquanto as horizontais são de estabilidade (HALLAWELL, 2009).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), saúde é um estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas a ausência da doença (WHO, 2016).

O homem está cada vez mais livre pelo conhecimento que se adquire ao longo das experiências e transformações de vida, conseqüentemente mais preso e influenciado pelo desenvolvimento do meio social e científico-tecnológico. Acaba adotando comportamentos que o leva a agir de forma desenfreada a fim de obter o lucro econômico-financeiro, direitos adquiridos, envolvendo-se em uma série de políticas de benefícios à custa da necessária valorização (COSTA, 2004).

Além do conhecimento técnico é importante compreender e analisar melhor os clientes que estão à procura dos serviços de micropigmentação, pois o descontentamento com a aparência física pode ser apenas parte dos problemas externos possíveis de se compreender. Trabalhar com ser o humano vai muito além da transformação visual é preciso um olhar mais amplo e crítico, analisar cada ser humano de forma individual respeitando suas necessidades e fatores emocionais, saber detectar outros problemas além da aparência física que levam as pessoas a procurar esses serviços, por exemplo, as alopecias, vitiligo, pós-mastectomia. Os profissionais bem preparados executando os trabalhos de forma adequada podem contribuir significativamente com a melhora da autoestima e no convívio social dessas pessoas.

Cada vez mais se faz necessária a especialização na área da estética envolvendo conhecimentos transdisciplinares para atuar no mercado da beleza, pois o resultado de um trabalho pode ter impactos positivos ou negativos com relação à imagem do indivíduo e quando isso não acontece, os transtornos e desequilíbrios podem trazer prejuízos pela vida toda (HALLAWELL, 2009).

A estética cada vez mais vem ocupando um papel determinante dentro da sociedade, além de embelezar e valorizar o ser humano, tem a função de reparar e corrigir imperfeições, sobre os mais diversos tipos de problemas de saúde que afetam diretamente ou indiretamente o bem-estar do indivíduo. Entre esses aspectos podemos citar a mastectomia, a retirada parcial ou total das mamas, sendo um processo enfrentado pelas mulheres, pois elas exercem um destaque na harmonização do corpo feminino e perdê-las é tarefa difícil de enfrentar. Após o processo de cicatrização e recuperação do paciente é possível fazer a reconstrução da aréola e mamilo pela dermografia corretiva, uma técnica desenvolvida para a complementação da dermatologia e da cirurgia estética (MARTINS *et al.*, 2009).

Já as pessoas com vitiligo sofrem com desconforto da aparência, principalmente no convívio social, sendo possível fazer a tatuagem cosmética como camuflagem do vitiligo em pequenas áreas localizadas, sendo o resultado bem positivo com relação à aproximação da cor, mas a técnica é temporária e não substitui o tratamento médico (MARTINS *et al.*, 2009).

As alopecias cicatriciais são perdas capilares que ocorrem acompanhadas de processo de perda folicular (destruição do folículo e substituição deste folículo por uma cicatriz), ocorre após a área acometida ter sido traumatizada por escoriação,

queimadura, produtos químicos, cortes cirúrgicos. O dano folicular e sua substituição por uma fibrose (cicatriz) poderá ocorrer de forma lenta. A micropigmentação pode reparar ou reconstruir as falhas, parcial ou total, das sobrancelhas ou do couro cabeludo (LEITE JÚNIOR, 2012).

Os resultados desses procedimentos, para embelezamento da correção e reparo das áreas afetadas, podem atuar de forma positiva e melhorar a qualidade de vida e a autoestima das pessoas nos aspectos psicossociais.

Cabe ao profissional de saúde definir através da história clínica, do exame físico e dos exames complementares que o diagnóstico o paciente apresenta e, em virtude disso, trata-lo adequadamente (LEITE JÚNIOR, 2012).

2.6 PELE: CLASSIFICAÇÃO E FOTOTIPO

O conhecimento e o estudo sobre a estrutura da pele é fundamental antes de se tornar um tatuador cosmético, analisar e avaliar as condições da pele quanto a classificação e aspecto da superfície, a cor (melanina), identificar problemas ou patologias na superfície, são requisitos importantes para garantir a qualidade e satisfação de um bom trabalho.

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, formada por duas camadas: a mais externa chamada de epiderme e a mais interna a derme. Cada uma delas apresentam camadas distintas (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A epiderme é dividida em cinco estratos: basal, espinhoso, granuloso, lúcida e córnea (da mais profunda para a mais superficial), podendo variar de espessura, na região das palmas das mãos 1,5 mm e pálpebras 0,3 mm Tem a função de revestir e proteger contra agentes externos e o meio interno, sofre constante regeneração ao longo de 28 dias, e não totalmente impermeável, sendo possível produto com baixo peso molecular atravessar a primeira camada da pele (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Na camada mais profunda da epiderme encontra-se a camada basal, a qual através da papila dérmica confere os aportes de nutrientes para epiderme essencialmente queratinizada; é formada por células de melanócitos responsáveis pela produção de melanina (proteína, que confere o pigmento da pele) e a células dos queratinócitos, responsáveis pela produção de queratina (proteína de proteção).

Com o processo de renovação, as células da camada basal, ao passarem para a camada espinhosa, perdem água, dando a formação do preenchimento da melanina

na queratina na camada espinhosa. Seguindo esse processo de enfilamento do tecido os grânulos de melanina se formam, na camada granulosa, dando proteção contra os raios ultravioleta. Pela camada córnea, é que ocorre a absorção das substâncias cosméticas, é um revestimento resistente externo, formado por tecido morto e por células anucleadas e desidratadas (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A derme se encontra logo abaixo da camada da epiderme é a porção mais densa da pele, é altamente vascularizada, e formada por colágeno e elastina e rica em fibroblastos que dá sustentação para epiderme. A derme se divide em duas camadas, a camada papilar está em contato com a epiderme, facilitadora da nutrição das células da epiderme, através dos vasos sanguíneos da camada reticular. A reticular é a mais espessa em contato com a hipoderme, possui fibras de colágeno, que conferem maior resistência ao tecido, formado por vasos sanguíneos, glândulas sebáceas e sudoríparas, folículos pilosos e nervos que levam estímulos ao cérebro.

Já a hipoderme ou tecido celular subcutâneo não faz parte da pele é formada por tecido conjuntivo frouxo e células adiposas tem a função de proteção contra impactos, reservas energéticas e isolantes térmicos (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

2.6.1 CLASSIFICAÇÃO DOS TIPOS DE PELE

O aspecto superficial pode ser utilizado para classificar os tipos de pele, pois visualmente e através do tato conseguimos sentir quando a pele esta seca, oleosa, ou com qualquer outro tipo de alteração. As peles oleosas, mais espessas ou desidratadas são mais difíceis de serem pigmentadas (GIARETTA, 2016).

Dall Gobbo e Garcia (2010) classificam a pele em cinco tipos. *Pele endérmica* é normal, livre de qualquer problema, os poros tornam imperceptíveis e a textura é lisa e aveludada. *Pele lipídica ou oleosa*: tem um teor de oleosidade anormal, a aparência da testa e queixo é espessa, com aspecto úmido, brilhoso e com óstios dilatados. *Pele alípica ou seca*: as glândulas sudoríparas e sebáceas por enviar pouca quantidade de líquido à superfície cutânea deixa a pele com aparência desidratada, sem brilho e sem vitalidade, com tendência a descamação e os óstio quase não aparecem. A *pele mista* é muito parecida com a oleosa é facilmente encontrado, o maior foco de oleosidade é na zona central - zona T (testa, nariz e queixo), o que a difere é que as partes laterais da face são secas. Já a *pele sensível* tem a textura fina, seca, avermelhada e sensível.

Apresenta algumas vermelhidões e irritações, além de ser muito reativa com produtos cosméticos e agentes externos como variações climáticas.

2.6.2 ALTERAÇÕES CUTÂNEAS

Após a agressão tecidual, inicia-se um processo de inflamação, e o local evolui para uma fase de reparo em que são reconstruídos os tecidos, podendo ocorrer à regeneração-substituição de um tecido lesado por um tecido semelhante ou a cicatrização, processo de substituição de um tecido por um tecido conjuntivo não específico, ou seja, tecido fibroso. Primeiro acontece a regeneração, depois a cicatrização (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Dall Gobbo e Garcia (2010) dizem quando há destruição do tecido, o dano é reparado e a região substituída por tecido fibroso formando a cicatriz, ou seja, há uma proliferação de tecido fibroso no local do tecido destruído por trauma ou doença (por exemplo: queimadura, pós-cirurgia, cicatriz de acne, pós-traumatismo). Segundo Oliveira e colaboradores (2008), a cicatriz é o resultado de um machucado, um processo natural do nosso corpo que podem ser planas, deprimidas, elevadas ou queloides.

O queloide é uma cicatrização exagerada pelo o excesso e anormalidade da produção de colágeno, tem característica espessa, dura, firme, superfície lisa, inelástica e inestética. Podem ocorrer por fatores genéticos e com pré-disposição em negros e mestiços (DALL GOBBO; GARCIA, 2010).

Dias depois após o processo de micropigmentação surgem as crostas. A crosta é o acúmulo de líquido formado de sangue e pus (massa de exsudato) ou concreção (solidez) que se forma na área de perda tecidual, resultante do dessecamento de serosidade (pus, sangue, em mistura com restos epiteliais) (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Conforme Giaretta (2016), o processo de cicatrização pode acontecer nos primeiros quatorze dias do mês, porém a renovação completa da pele pode levar em torno de vinte e oito dias e ser mais lento com o avanço da idade.

Depois do surgimento da crosta o local fica ressecado, gerando incomodo no indivíduo que poderá coçar o local e levar a um processo de escoriação. A escoriação normalmente se forma pela coçadura ou ação induzida, é um tipo de erosão linear, uma lesão superficial. Perda da epiderme a cura ocorre sem cicatriz (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Em específico, na tatuagem cosmética dos lábios, pode desencadear a herpes. Conforme Festa e colaboradores (2013) o herpes simples são vesículas agrupadas em forma de bolhas sobre base eritematoedematosa e infectocontagiosa, podendo ocorrer por transmissão sexual ou contato pessoal. O vírus fica alojado no organismo por toda vida com fases acalmia e de reativação. Os sintomas são de dor e queimação na pele.

É importante salientar que a herpes é contagiosa e pode contaminar outras pessoas ou áreas do corpo que estarão em processo estéticos.

2.6.3 FOTOTIPO DE PELE

A classificação do fototipo de pele é um dos fatores que determina na escolha da cor do pigmento a ser usado na tatuagem cosmética e posteriormente um resultado satisfatório na *microblading*. O conhecimento a respeito auxilia o profissional micropigmentador a reconhecer e avaliar as sensibilidades e anormalidades dos diferentes fototipos de pele, pois estando a pele em seu estado integro, melhor será a recuperação e regeneração do tecido cutâneo após o procedimento.

Em 1975, um médico americano, o Dr. Fitzpatrick (1975), da Escola de Medicina de Harvard, criou uma classificação para os tipos de pele. A classificação foi baseada na reação da queimadura solar em seis tipos de pele. O Quadro 1 foi adaptado conforme a proposta do Dr. Fitzpatrick, para facilitar a avaliação do fototipo de pele nos procedimentos da tatuagem cosmética.

Após os procedimentos de tatuagem cosmética não é indicada a exposição ao sol, para que os pigmentos não sofram a fotodegradação.

Quadro 1 - Descrição dos fototipos de pele.

Fototipos coletâneos	Ação do Sol sobre a pele
Fototipo I	Queima sempre, pigmenta nunca, muito sensível ao sol
Fototipo II	Queima sempre, pigmenta levemente, muito sensível ao sol
Fototipo III	Queima moderadamente, pigmenta medianamente, sensibilidade normal ao sol
Fototipo IV	Queima pouco, pigmenta sempre, sensibilidade normal ao sol
Fototipo V	Queima raramente, pigmenta intensamente e pouco sensível ao sol
Fototipo VI	Queima nunca, pigmenta intensamente e insensível ao sol

Fonte: Adaptado de *FITZPATRICK, T. B. Soleil et Peau. J Med Esthet*, v. 2, n. 7, p. 34-35, 1975.

A luz do sol contribui com o bem-estar fisiológico e psicológico do nosso organismo e estimula a produção de vitamina D para a formação óssea. Mas a exposição prolongada ou de forma inadequada ao sol pode trazer consequências de ressecamento, desidratação, descamação, manchas e provocar o câncer de pele. O uso de filtro solar na pele contribui com os diversos fototipos de pele, garantindo a proteção dos raios ultravioletas, e a integridade da pele após a exposição solar. As radiações solares e o comprimento de onda da radiação ultravioleta UVA estão em torno do comprimento de onda de 320 a 400 nm. Esse comprimento de onda atinge a camada mais profunda da epiderme (camada basal) e a derme, causando o bronzeamento, foto envelhecimento e o câncer de pele. A radiação ultravioleta UVB com comprimento de onda de 290 a 320 nm tem penetração média, atingindo a camada mais superficial da pele (epiderme), promovendo o eritema, envelhecimento cutâneo e câncer de pele (REBELLO, 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO DESFECHO PRIMÁRIO

Avaliar no período de seis meses a fixação cutânea e segurança no uso dos pigmentos orgânicos e inorgânicos utilizados em *microblading*,

3.2 OBJETIVO DESFECHO SECUNDÁRIO

Padronizar instrumentação, equipamento e software para avaliar a fixação de pigmentos na pele através da técnica de *microblading* de sobrancelhas e verificar toxicidade através do teste de mutagenicidade “in vitro” dos pigmentos.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 MATERIAL

Os procedimentos da *microblading* foram realizados com um equipamento Indutor Tebore® (AFE ANVISA: 8081553 REGISTRO ANVISA: 8081553007, Resp. Leticia Karen Antonielli CRF 21175/MG). Os pigmentos usados foram de dois tipos; pigmento inorgânico (Mag Gold®, lote 003166CC; lote 003166CM, lote 003166CE; lote 003166EI; (validade 12/2019), pigmento orgânico (Rb kollors®, lote 103017; lote 104017; lote 103417; lote 102517; validade 07/2019 e lote 004518 validade 01/2020), lâminas descartáveis, pinça, cera, lupa, paquímetro, lápis demográfico, anestésico (marca Enla®, lote 43757, validade 11/2018), algodão, pomada cicatrizante, adstringente, sabonete antisséptico, lenços descartáveis, material de segurança (luvas, máscara, jaleco, gorro). O Equipamento para avaliação foi uma câmera fotográfica digital Kodak *Easysshare* Z981 14 *Megapixels*, e para inferir valor numérico a quantidade de pigmento detectada por fotografia digital, foi utilizado o programa GIMP® (GNU *Image Processing*).

Os materiais utilizados para o teste Ames, foram utilizados linhagens de *Salmonella typhimurium*, TA98, TA100, TA102 e TA 97a de *S. typhimurium*, gentilmente cedidas pelo Dr. Bruce Ames da Universidade de Berkeley (Califórnia, EUA) e mantidas pela Dra. Flávia Aparecida Resende, que gentilmente doou à Uniso (04/12/2017), Azida Sódica, Fração S9 (11`01L RAT UVER LS-9/aroclor 1254-induced male SD rat liver) Marca Moltox, Meio de Cultura - Bacto Ágar Purificado (BD) Ref. 214010, Placa de petri descartável esteril 90 x15, Glicose anidra P.A ACS kg ref. G1008.01.AH Marca Synth, mitomicina c obtida de *Streptomyces caespitosus* M4287-2mg (Sigma®), Fosfato de sódio e amônio tetrahidratado S9506-100 g. (Aldrich®), A D-Biotina (Sigma®) 0,00124 g e a L-Histidina (Sigma®), Solução de sais de *Vogel Bonner* (VB), tampão de fosfato de sódio 0,2 M pH 7,4, os instrumentos e insumos (materiais e vidrarias), erlenmeyer de 100, 125, 250, 500 e 1000 mL; pipetas graduada de vidro de 10 e 20 mL; pipetador automático variável de 10 a 100 µL, de 100 a 1000 µL e de 2000 µL; ponteiras plásticas descartáveis de 200 µL e de 1000 µL; pipetador motorizado para pipetas de vidro, *pipetting aid* (SWIFT PET+, HTL lab Solution) – Conceitual Com. de Equip. para Lab Ltda; placas de Petri de plástico descartáveis estéreis 90 x 15 (J. Prolab); algodão hidrófilo; papel de embrulho Kraft; tubos de ensaio

de vidro Pyrex nº 9820 (10 x 1,2 cm); tampas de metal para os tubos de ensaio; alça microbiológica de Henle; fluxo Laminar Classe II B.; estufa microbiológica ou BOD; incubator Shaker Series, Innova 40 da *New Brunswick Scientific Inc*, para erlenmeyer com programação de tempo e rotação; agitador Vórtex de tubos; banho-maria; flaconetes tipo *Eppendorf*; contador manual de células; placa de fundo preto; alcool 70 %; detergente Extran (Prolab neutro); estufa de secagem; estufa de esterilização por calor a seco; autoclave, sistema de filtro para água deionizada e água MilliQ.

4.2 TAMANHO DA AMOSTRA E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Amostra aleatória simples é aquela na qual todos os elementos tem a mesma probabilidade de serem selecionados. Uma amostra desse tipo pode ser obtida, por exemplo, através do sorteio dos elementos. O tamanho da amostra de 36 indivíduos foi calculado através de software que utiliza a equação 1 uma população de 1500 indivíduos, com erro amostral de 5 % e 95 % de nível de confiança. A calculadora on-line utiliza a seguinte fórmula:

$$n = \frac{N.Z^2.p.(1-p)}{Z^2.p.(1-p)+e^2.(N-1)} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde: n - amostra calculada, N - população, Z - variável normal padronizada associada ao nível de confiança, p - verdadeira probabilidade do evento, e - erro amostral (SANTOS, 2017).

4.3 DESENHO EXPERIMENTAL

Método experimental comparativo em humanos pelo estudo clínico paralelo, incluindo a taxa de alocação, segundo as diretrizes do guia CONSORT (2010). Este estudo seguiu essas diretrizes, por se tratar de um estudo clínico, e a partir deste foi desenvolvido o diagrama de fluxo das fases de intervenção: inclusão, alocação, segmento e análise.

Na primeira etapa designada 'Inclusão' foram entrevistadas 42 candidatas a sujeito de pesquisa e verificado se os critérios para inclusão neste estudo eram atendidos. Os sujeitos de pesquisa foram divididos aleatoriamente em dois grupos, sendo cada grupo constituído por 18 sujeitos de pesquisa. O grupo um (G1) foi

referente à intervenção com pigmento orgânico, e o grupo dois (G2) referente ao pigmento inorgânico. A terceira etapa foi realizada o seguimento dos sujeitos no estudo quanto à quantidade de cor da *microblading* na região das sobrancelhas. A coleta e registro dos dados foram realizados na etapa de análise.

A área micropigmentada foi a das sobrancelhas, o equipamento foi o Indutor Manual e a técnica foi a de fio a fio (*microblading*) que tem a durabilidade média de seis meses. Após avaliação do projeto aprovado pelo comitê de ética e pesquisa (Etapa I - EI), deu-se o início da seleção 36 indivíduos (Etapa II – EII). A análise inicial (Etapa III - EIII) foi realizada utilizando-se câmera fotográfica com padrão digital Kodak Easyshare Z981 14 Megapixels, em (tripé) na altura de 1,07 cm do chão até o suporte do rosto do tripé, com padronização de iluminação em sala escura com duas lâmpadas UV de 20 watts, a distância de 11 cm da câmera fotográfica até o suporte de rosto do tripé.

A pigmentação exógena foi monitorada através de fotografia digital e *software* GIMP® (GNU *Image Processing*) para avaliar quantitativamente a degradação dos pigmentos a que se refere à quantidade de cor escura na imagem na área da sobrancelha com *microblading*.

O ensaio clínico foi feito em um período de seis meses, com coleta de dados na primeira sessão (EIII), na segunda sessão após dois meses do início (EIV) e na terceira sessão após seis meses do início (EV). Os resultados quantitativos da pesquisa foram avaliados estatisticamente.

4.4 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Trinta e seis (36) sujeitos de pesquisa foram selecionados para o presente ensaio clínico, seguindo critérios de inclusão, que são: voluntárias do sexo feminino, com idade 30 a 45 anos e com diferentes tipos de pele. A faixa etária foi selecionada devido ao processo catabólico de renovação celular da pele na mesma (GIARETTA, 2016).

Os critérios de exclusão foram: sujeitos com micropigmentação de sobrancelhas, patologias, tais como, diabetes, obesidade, câncer e lúpus, e praticante de natação regular por interferência do cloro.

Os procedimentos para a seleção dos sujeitos foram realizados através de uma ficha de anamnese (Apêndice A), com os (dados pessoais, hábitos, rotinas e

patologias) e avaliação da pele seguindo o protocolo de análise facial (fototipo de pele, temperatura de pele¹, tipo de pele, dermatites). Posteriormente, esses grupos foram subdivididos aleatoriamente em mais dois grupos de pessoas que usaram o pigmento orgânico de origem animal (melanina), vegetal (carotenos), mineral (negro-de-fumo) e lacas (corantes transformados em pigmentos pela cobertura de certos substratos, como o sulfato de bário e de cálcio) e outro que usou o pigmento inorgânico de origem de óxidos metálicos (de ferro, titânio, cobre, cromo), metais em pó (ferro, alumínio), cromatos de chumbo e ferrocianetos férricos (REBELLO, 2005).

4.4.1 RISCOS E BENEFÍCIOS

O reconhecimento do fato de que todos os compostos químicos apresentam toxicidade em algum nível de concentração é imprescindível para o nosso estudo. A utilização de pigmentos orgânicos e inorgânicos, tal como hipersensibilidade ao produto, que estas preparações podem representar. No caso de hipersensibilidade ao produto, o tratamento é interrompido e realizado os cuidados e orientações a seguir pelo profissional.

O sujeito sofre desconfortos mínimos nas primeiras 24 h (sensação de ardência e inchaço, dependendo da sensibilidade da pele), podendo ser controlado com o uso de água boricada gelada, após 24 h o aparecimento de crostas no local da *microblading* é normal, pois fazem parte do processo regenerativo da pele, e pode ser aliviado com o uso óleo de girassol ou de amêndoas. Esses cuidados fazem parte do pós-procedimento da *microblading* bem como manter o local limpo, usar filtro solar, não se expor ao sol e não frequentar: praia, piscina, sauna, locais poluídos e contaminados.

Após o processo de cicatrização no período de 40 dias, podem ocorrer algumas falhas no local da *microblading*, sendo preenchido somente na conclusão desse projeto para não comprometer a análise e avaliação dos resultados coletados no período da pesquisa.

O voluntário recebe a *microblading* de sobrancelha por profissional capacitado, o conhecimento sobre o seu protocolo e tipo de pele, a qual ocorre através da análise realizada com ficha de anamnese. A tatuagem cosmética corrige as falhas de pelos e

¹ A temperatura da pele tem a ver com o subtom desta, podendo ser quente, fria ou neutra de acordo com a cor.

problemas que resulta a falta das sobrancelhas e afeta negativamente a vida do indivíduo no contexto estético e ou psicossocial, podendo abalar a autoestima e comprometer a vida social e profissional.

4.4.2 CRITÉRIO DE SUSPENSÃO ENCERRAMENTO DA PESQUISA

Em caso de hipersensibilidade ao produto, o tratamento é interrompido e é feito o uso de creme finalizante Dermo Mag® (que tem a ação de reparação dos tecidos e auxiliar no processo de cicatrização e calmante de pele).

4.5 INTERVENÇÃO DO ESTUDO

A intervenção foi realizada no Visagismo IBCélia, a área a ser tatuada foi das sobrancelhas, com um equipamento chamado Indutor Manual, exercendo a técnica de fio a fio que tem a durabilidade de aproximadamente seis meses. A avaliação inicial foi realizada com câmera fotográfica com padrão digital Kodak *Easysshare Z981 14 Megapixels*, em (tripé) na altura de 1,07 cm do chão até o suporte do rosto do tripé, e com a distância da câmera até o suporte do rosto de 11 cm. Foi observada através das fotos a escala da degradação da cor, e anormalidades na pele, por um período de seis meses, sendo a avaliação na primeira sessão Etapa III (EIII), a segunda depois de dois meses Etapa IV (EIV) e a terceira depois de seis meses Etapa V (EV).

4.6 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

4.6.1 FICHA ANAMNÉTICA

A ficha de anamnese individual do sujeito de pesquisa foi preenchida pelo profissional de estética na EII. Nesta foram avaliadas às características da pele facial, tais como, fototipo de pele, temperatura de pele, tipo de pele e dermatites. Com base nestes dados foi possível escolher a cor ideal do pigmento utilizado no procedimento de acordo com as características da pele.

4.6.2 FOTOGRAFIA DIGITAL PADRONIZADA

Utilizou-se a fotografia digital padronizada para avaliar a degradação de pigmentos na pele e gerar resultados quali-quantitativos, propiciando uma análise estatística dos resultados, conforme ilustração da Figura 3. Para tanto, as condições de iluminação foram realizadas em sala escura com iluminação de 02 lâmpadas UV de 20 W, com câmera padrão digital Kodak Easyshare Z981 14 Megapixels, em (tripé) na altura de 1,07 cm do chão até o suporte do rosto do tripé e a distancia de 11 cm da câmera fotográfica até o suporte de rosto do tripé. A realização da intervenção iniciou a fotografia e observação da primeira análise da primeira sessão (EIII), da segunda sessão após dois meses do início (EIV) e da terceira sessão após seis meses do início (EV).

Figura 3 - Estrutura para fotografia digital padronizada



A) Estrutura inteira

B) Estrutura parcial

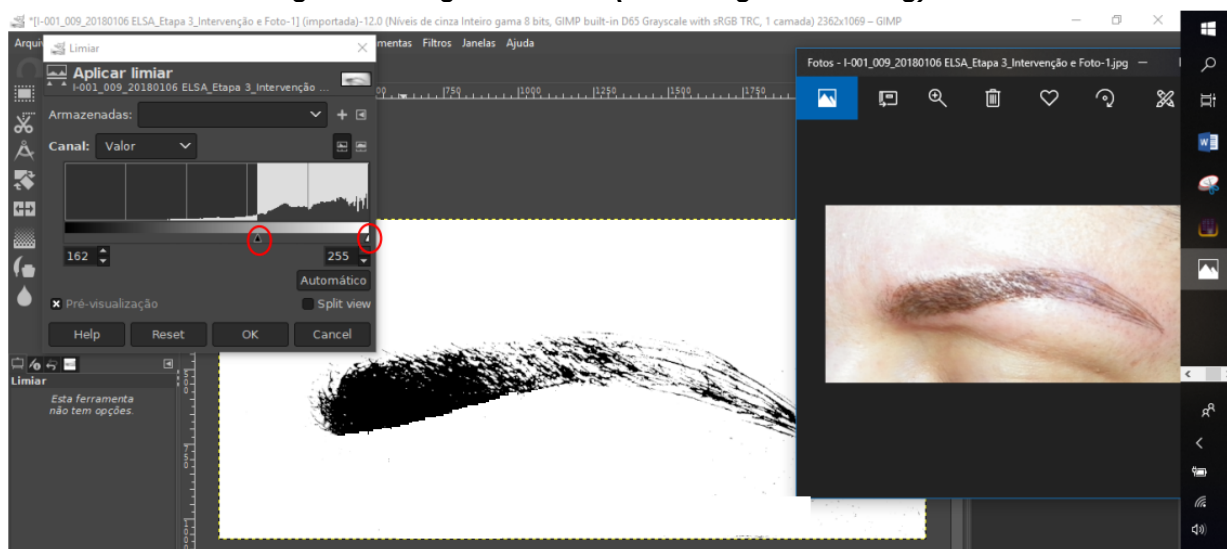
Fonte: Elaboração própria

4.6.3 ANÁLISE DA FOTOGRAFIA DIGITAL

Para obter resultados quali-quantitativos das fotografias digitais foi utilizado o programa GIMP® (*GNU Image Processing*), o qual inferiu valor numérico a quantidade de pigmento detectada por fotografia digital incluindo a área da sobrancelha. Após abrir a imagem verificou-se se a imagem tinha a dimensão de $2362 \times 1069 = 2524978$ pontos digitais, que foi usado no cálculo. Posteriormente a imagem foi convertida em tons de cinza, e filtrada a parte escura transformando-a em preto e branco. Desta forma foi possível capturar e quantificar todas as áreas escuras relacionadas ao pigmento da área da sobrancelha, conforme (FIGURA 4).

Para compor essa análise foram utilizados os testes de normalidade *Student* (testes de *Anderson–Darling*, *Kolmogorov–Smirnov*, *Shapiro–Wilk* e *Ryan–Joiner*) para verificar se a distribuição de probabilidade associada ao conjunto de dados (resultados obtidos nas etapas III, IV e V) pode ser aproximada pela distribuição normal. Uma vez indicada a normalidade dos dados, utilizamos o teste T de *Student* para comparar os resultados (ACTION).

Figura 4 - Programa GIMP® (GNU Image Processing)



Fonte: Elaboração própria

4.6.4 TESTE AMES – TESTE DE TRIAGEM

O teste Ames foi executado como descrito no trabalho de Yoshida (2014). O ensaio foi usado para avaliação de mutagenicidade em amostras de pigmentos orgânicos e inorgânicos. Esse teste avalia se as substâncias causam risco potencial à saúde humana e danos genéticos ocasionando a mutagênica.

As linhagens de *S. typhimurium* derivadas da parental LT2 (*Heat-labile Toxins*, LT), auxotróficas para histidina (his) foram utilizadas no teste Ames. As Salmonelas modificadas não sintetizam histidina (apresenta diferentes mutações no *operon* da histidina). São construídas para detectar mutações do tipo deslocamento do quadro de leitura ou substituição de pares de base no DNA. Essas linhagens são incapazes de crescer em meio de cultura mínimo sem histidina, a menos que ocorram mutações que restaurem a sua capacidade de síntese. As bactérias mutadas não produzem histidina se elas sofrerem mutação com a exposição a uma substância química em teste, ela reverte ao seu estado selvagem produzindo histidina (YOSHIDA, 2014).

4.6.4.1 Taxa de reversão espontânea

Neste estudo utilizou-se a taxa de reversão espontânea para cada linhagem de cepas modificadas, testada em condições de ausência e presença da mistura S9, de acordo com a Tabela 1, seguindo o preconizado por Mortelmans e Zeiger (2000).

Tabela 1 - Taxa de reversão espontânea por placa

Linhagem	Revertentes sem S9*	Revertentes com S9*
TA 97a	75 - 200	100 - 200
TA 98	20 - 50	20 - 50
TA 100	75 - 200	75 - 200
TA 102	100 - 300	200 - 400

*Número de colônias de crescimento espontâneo por placa no Controle espontâneo.

Fonte: Mortelmans e Zeiger (2000)

4.6.4.2 Manutenção e estoque das linhagens de *S. typhimurium*

As linhagens de *S. typhimurium* são estocadas em vials criogênicos (2,0 mL) e mantidas no freezer vertical de ultrabaixa temperatura (Revco®) do Lapetox – Laboratório de Pesquisa Toxicológica/Uniso, a -70 °C para que se mantenham inalteradas todas as suas características genéticas Tabela 2. Para cada 0,9 mL de cultura foi adicionada 0,1 mL de dimetilsufóxido (DMSO – Sigma-Aldrich) que é um crioprotetor (UMBUZEIRO; VARGAS, 2003).

Tabela 2 - Características genotípicas e fenotípicas para o ensaio de Teste de Ames

Cepa	Mutação em <i>His</i>	Plasmídeos	S	Deficiência de reparo em <i>uvrB</i>	Tipo de mutação detectável	
TA97a	<i>hisD6610 hisO1242</i>	pKM101	<i>fa</i>	Δ (<i>uvrB</i> chi bio)	Frameshift	Adição de um par GC
TA98	<i>hisD3052</i>	pKM101	<i>fa</i>	Δ (<i>uvrB</i> chi bio)	Frameshift	Deleção de um par GC
TA100	<i>hisG46</i>	pKM101	<i>fa</i>	Δ (<i>uvrB</i> chi bio)	Substituição	GC para AT
TA102	<i>hisG428</i>	pKM101 pAQ1	<i>fa</i>	-	Substituição	AT para GC

A deleção (Δ) em *uvrB* também inclui os genes nitrato redutase (chi) e biotina (bio). *Frameshift*, deslocamento do quadro de leitura. Fonte: Umbuzeiro e Vargas (2003)

4.6.4.3 Preparo dos inóculos de *S. typhimurium*

Com auxílio de alça de inoculação, pequena quantidade da cultura estoque congelada é semeada em 30 mL de caldo nutriente (Oxoid nº 2), incubada a 37 °C, por 11-14 h em *shaker* incubador (37 °C -100 rpm), de modo a obter uma densidade de $1-2 \times 10^9$ bactérias/mL. Após o tempo, as culturas são removidas e mantidas refrigeradas em geladeira até o momento de uso (UMBUZEIRO; VARGAS, 2003).

4.6.4.4 Meios de cultura e soluções

Os meios de cultura e soluções necessários para os ensaios de mutação reversa foram preparados de acordo com as especificações de Maron e Ames (1983), abaixo descritos.

CALDO NUTRIENTE

O meio Nutrient Broth nº 2 (CM 0067 OXOID®) foi dissolvido em água purificada por osmose reversa na proporção de 0,75 g/30 mL. O meio foi autoclavado a 121 °C, por 20 min e após o arrefecimento foi mantido refrigerado entre 2 a 8 °C. Este caldo é utilizado para o crescimento de culturas bacterianas de *Salmonella typhimurium*.

TOP AGAR

O Bacto Agar purificado (BD® Ref 214010) 0,6 % (m/v) e o Cloreto de sódio (Sigma®) 0,5 % (m/v) foram dissolvidos em 100 mL de água purificada por osmose reversa. O meio foi autoclavado a 121 °C, por 20 min e após o arrefecimento foi mantido refrigerado entre 2 a 8 °C. O Top Agar é utilizado para crescimento das colônias revertentes. No momento do uso, o Top ágar foi fundido em forno de microondas e adicionado de 10 mL de solução de biotina/histidina e homogeneizado.

SOLUÇÃO DE BIOTINA/HISTIDINA (0,5 MM)

A D-Biotina (Sigma®) 0,00124 g e a L-Histidina (Sigma®) 0,00096 g foram dissolvidas em 10 mL de água purificada por osmose reversa aquecida a 45 °C. A solução foi autoclavada a 121 °C por 20 min e após o arrefecimento foi mantido refrigerado entre 2 a 8 °C. Esta solução é utilizada para suplementar o Top Agar quanto à biotina e traços de histidina.

AGAR MÍNIMO NUTRIENTE

O Bacto Agar purificado (BD® Ref. 214010) foi pesado 7,5 g e dissolvido em 465 mL de água purificada por osmose reversa e agitado até a dissolução. O Agar mínimo nutriente foi autoclavado a 121 °C por 20 min. Aguardou o esfriamento até aproximadamente 60 °C e dentro da Capela de Fluxo Laminar, ao erlenmeyer contendo o Agar mínimo foi adicionado 10 mL de solução de sais de Vogel Bonner (VB) e 25 mL de solução de glicose 40 % e agitado vigorosamente. Para a linhagem

TA97a foi utilizada a solução de glicose 8 %. Foi vertida a solução de meio em placas de Petri esterilizadas e descartáveis, verificado a formação de bolhas e retiradas com a chama do bico de Bunsen. As placas foram incubadas invertidas em estufa a 37 °C por 48 h.

SOLUÇÃO DE SAIS DE VOGEL BONNER (VB)

Para a preparação de 100 mL da solução de sais de Vogel Bonner, foram pesados Sulfato de magnésio (Reagen[®]) 1,0 g, Ácido cítrico (Sigma[®]) 10,0 g, Fosfato de potássio dibásico (Merck[®]) 50,0 g, Fosfato de sódio e amônio (Merck[®]) 17,5 g e dissolvidos seguindo a sequência em 67 mL de água purificada por osmose reversa mantidos a temperatura de aproximadamente 45 °C. A solução foi autoclavada a 121 °C por 20 min.

SOLUÇÕES DE GLICOSE A 40 % E 8 %

Para a preparação de 100 mL e 50 mL da solução de Glicose a 40 % e 8 %, foram pesados respectivamente 40 g e 4 g de D-Glucose (Sigma[®]) e dissolvidos, respectivamente, em 90 mL e 50 mL de água purificada por osmose reversa. As soluções foram autoclavadas a 121 °C por 20 min. A solução de Glicose a 40 % é usada para o preparo do Agar mínimo glicosado para as linhagens TA98, TA100 e TA102. A solução de Glicose 8 % é usada para o preparo do Agar mínimo glicosado para a cepa TA97a.

TAMPÃO DE FOSFATO DE SÓDIO 0,2 M pH 7,4

Para a preparação da Solução A, foi pesada uma massa de 2,76 g de Fosfato de sódio monobásico NaH_2PO_4 (Reagen[®]) e dissolvido em 100 mL de água purificada por osmose reversa. Para a preparação da Solução B, foi pesado 2,84 g de Fosfato de sódio dibásico Na_2HPO_4 (Merck[®]) e dissolvido em 100 mL de água purificada por osmose reversa. As soluções A e B foram preparadas em dois béqueres separados. Após a calibração do pHmetro, foi colocado o eletrodo na solução A e adicionado aos poucos a solução B até o pH atingir valor de 7,4. A solução tampão final foi autoclavada a 121 °C por 20 min e após o arrefecimento foi mantida refrigerado entre 2 a 8 °C.

MISTURA S9

Sabe-se que muitos compostos iniciadores do processo de carcinogênese necessitam ser metabolizados antes de interagir com o material genético. Desse modo realiza-se o teste Ames na presença e ausência de um sistema de metabolização. O sistema mais comumente utilizado, a fração microssomal S9, é composta por um homogenato de células de fígado de rato, previamente tratado com a mistura bifenil policlorinada (Aroclor 1254), que induz um aumento de enzimas P-450 neste órgão (UMBUZEIRO; VARGAS, 2003). É assim denominado pela obtenção de frações de enzimas *post* mitocondriais no sobrenadante resultante da ultracentrifugação a 9.000 g, por 10 min, do homogenato hepático (AMES *et al.*, 1973).

β -NADP (β -NICOTINAMIDA ADENINA DINUCLEOTÍDEO FOSFATO) 0,1 M

Para a preparação de solução 0,1 M, foi pesada uma massa de 0,15308 g de β -NADP (Sigma®) e dissolvida em 2 mL de água purificada, tipo MilliQ, estéril. A solução foi preparada no momento do uso em frasco esterilizado.

G6P (GLICOSE-6-FOSFATO) 1M

Para a preparação de solução 1 M, foi pesada uma massa de 0,084 g de G6P (Sigma®) e dissolvida em 300 μ L de água purificada, tipo MilliQ, estéril. A solução foi preparada no momento do uso em frasco esterilizado.

SOLUÇÃO DE KCl 1,65 M

Para a preparação de solução 1,65 M, foi pesada uma massa de 1,23 g de KCl (Sigma®) e dissolvida em 10 mL de água purificada por osmose reversa. A solução foi autoclavada a 121 °C por 20 min e armazenado em freezer a -20 °C.

SOLUÇÃO DE MgCl₂ 0,4 M

Para a preparação de solução 0,4 M, foi pesada uma massa de 0,81 g de MgCl (Sigma®) e dissolvida em 10 mL de água purificada por osmose reversa. A solução foi autoclavada a 121 °C por 20 min e armazenado em freezer a -20 °C.

4.6.4.5 Fração Microssomal S9

A Fração S9 (11'01L RAT LIVER LS-9 / Aroclor 1254-induced male SD rat liver) utilizada no sistema de ativação metabólica foi adquirida liofilizada da MOLTOX®,

armazenado a -20 °C e reconstituído com 2,0 mL de água purificada, pelo sistema MilliQ, estéril no momento do uso.

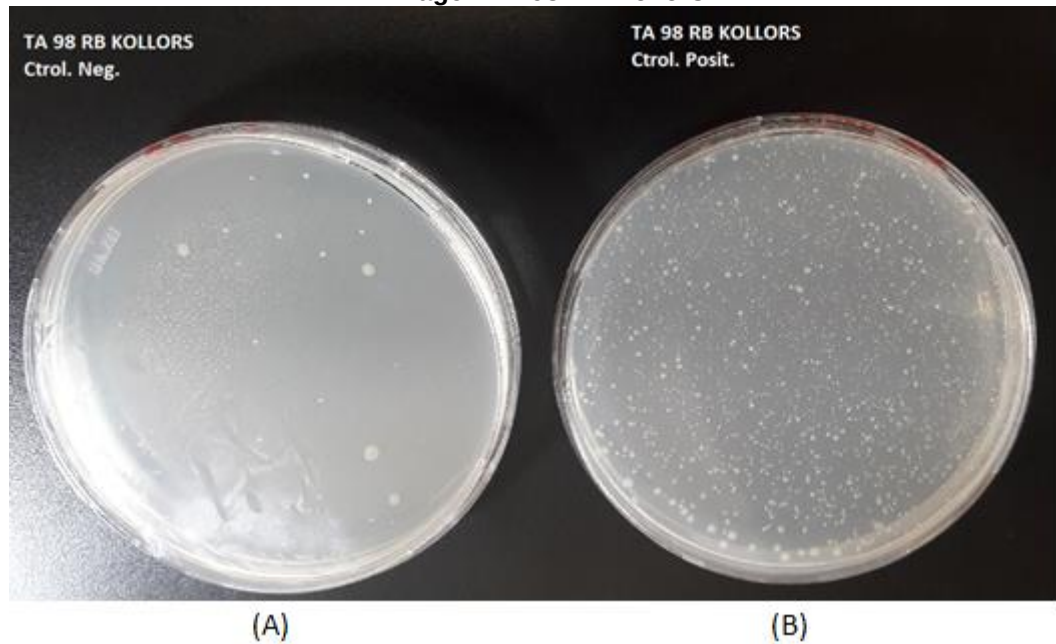
Foi usada a fração microssomal S9 homogeneizada de fígado de rato Sprague Dawley (fração pós-mitocondrial, suplementada com um cofator, preparada a partir de fígado de roedores tratados com agentes indutores de enzimas, Aroclor 1254 - 500 mg/kg), o qual induz um conjunto de enzimas do sistema microssomal hepático.

A fração S9 revela se a substância ou amostra é mutagênica em sua forma original ou necessita ser metabolizada ou ativada para se tornar mutagênica. O sistema de ativação metabólica consiste de 4 % de fração S9, 1 % de 0,4 M de cloreto de magnésio, 1 % de 1,65 M de cloreto de potássio, 0,5 % de 1 M de glicose-6-fosfato e 4 % de 0,1 M de b-nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, além de 50 % de 0,2 M de tampão fosfato pH 7,4 e 39,5 % de água deionizada estéril (MARON; AMES, 1983). Essa mistura foi mantida resfriada em banho de gelo durante todo o ensaio. Esta solução de trabalho foi preparada sempre a fresco e utilizada num período máximo de 3 h.

4.6.4.6 Controles negativos e positivos

Os ensaios foram realizados sempre em presença de controles negativos e positivos Figura 5 e 6 para assegurar a capacidade de resposta da linhagem e a eficácia do sistema de ativação metabólica.

Figura 5 - Controles negativo e positivo da linhagem TA98 RB Kollors Crescimento de colônias representativas de revertentes (His⁺) em (A), controle negativo e (B), controle positivo da linhagem TA98 RB Kollors



Fonte: Elaboração própria

Figura 6 - Controles positivo e negativo da linhagem TA98 RB Kollors seguido pelas diferentes concentrações das substâncias.



Fonte: Elaboração própria

O controle negativo utilizado foi o solvente DMSO (dimetilsulfóxido) utilizado para dissolver as amostras e o volume por placa o mesmo utilizado para as amostras (200 µL).

Como controles positivos foram usados produtos químicos reconhecidamente mutagênicos Tabela 3, específicos para cada linhagem de *S. typhimurium*, em concentrações definidas (UMBUZEIRO; VARGAS, 2003).

Tabela 3 - Controles positivos das linhagens

Tabela 3. Controles positivos das linhagens

Linhagem	Controle -S9	Dose µg/pl	Controle +S9	Dose µg/pl
TA97 _a	9-aminoacridina	50	2 aminoantraceno	1-5
TA98	4-nitro-o-fenilenediamino	2,5	2 aminoantraceno	1-5
	4-nitroquinolona	0,5	2 aminofluoreno	10
TA100	Azida sódica	5	2 aminoantraceno	1-5
			2 aminofluoreno	10
TA102	Mitomicina C	0,5	2 aminoantraceno	5-10

Fonte: Elaboração própria

4.6.4.6.1 NPD (4-nitro-o-fenilenodiamino) (Sigma®)

Uma massa de 0,001 g de NPD foi analiticamente pesada e dissolvida em 5 mL de DMSO (Sigma®). Sendo este o controle utilizado para as linhagens TA98 e TA97a em ausência de S9. Foi utilizado 50 µL por placa em concentração de 10,0 µg/placa.

4.6.4.6.2 NaN₃ (Azida sódica) (Sigma®)

Uma massa de 0,0005 g de NaN₃ foi analiticamente pesada e dissolvida em 10 mL de água purificada, tipo MilliQ, estéril. Sendo este o controle utilizado para a linhagem TA100 em ausência de S9. Foi utilizado 50 µL por placa em concentração de 1,25 µg/placa.

4.6.4.6.3 MMC (Mitomicina C)

Uma massa de 0,0001 g de MMC foi analiticamente pesada e dissolvida em 10 mL de água purificada, tipo MilliQ, estéril. Sendo este o controle utilizado para a linhagem TA102 em ausência de S9. Foi utilizado 50 µL por placa em concentração de 0,5 µg/placa.

4.6.4.6.4 2-AA (2-aminoantraceno) (Sigma®)

Uma massa de 0,0003 g de 2-AA foi analiticamente pesada e dissolvida em 10 mL de DMSO (Sigma®). Sendo este o controle utilizado para as linhagens TA98,

TA97a e TA100 na presença de S9. Foi utilizado 50 µL por placa em concentração de 1,25 µg/placa.

4.6.4.6.5 2-AF (2-aminofluorene) (Sigma®)

Uma massa de 0,0005 g de 2-AF foi analiticamente pesada e dissolvida em 5 mL de DMSO (Sigma®). Sendo este o controle utilizado para a linhagem TA102 na presença de S9. Foi utilizado 50 µL por placa em concentração de 10,0 µg/placa.

4.6.5 PROTOCOLO DE ENSAIO PARA TESTE AMES

4.6.5.1 Teste Preliminar de Toxicidade

Os testes de toxicidade foram realizados para dois pigmentos para micropigmentação: 1) suspensão aquosa de pigmentos esterilizada por raios gama da linha orgânica RB Kollors, que doravante denominaremos P1; 2) suspensão aquosa de pigmentos da linha inorgânica Mag Color Pigmentos linha Gold, que doravante denominaremos P2. Foram avaliadas as características de crescimento da última população de bactérias na placa de ágar glicose mínimo após 48 h de incubação. Durante a contagem das placas, a toxicidade das amostras foi evidenciada pela ausência completa de crescimento, redução no número de revertentes His⁺ ou como um crescimento de fundo (*background*) nas placas teste de ágar glicose mínimo em comparação com as placas de controle negativo e controle espontâneo. Uma diminuição no crescimento de colônias com mutação reversa abaixo do controle espontâneo pode indicar toxicidade parcial, neste caso as bactérias sobreviventes formam ainda micro colônias. A ausência de crescimento de colônias e de crescimento de fundo indica um elevado grau de toxicidade que impede o crescimento da bactéria e a formação do crescimento de fundo (VARGAS; MOTTA; HENRIQUES, 1993; MORTELMANS; ZEIGER, 2000).

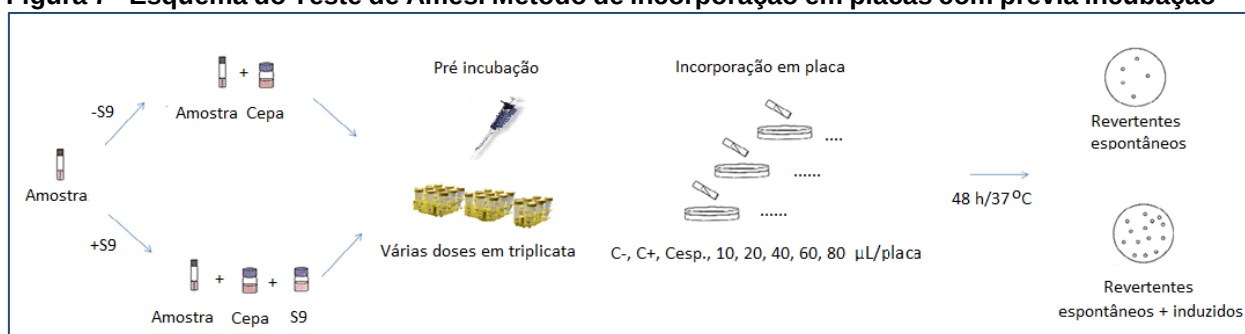
As concentrações foram selecionadas com base em testes preliminares de toxicidade diluindo-se as suspensões de ambos os pigmentos P1 e P2, conforme ilustra a Tabela 4, em cepas TA98 e TA100. O ensaio preliminar de toxicidade mostrou que os pigmentos não causam toxicidade às cepas, até mesmo sem sofrerem qualquer diluição.

Tabela 4 - Teste de toxicidade dos pigmentos p1 e p2 em cepas TA98 E TA100

Diluições dos Pigmentos em DMSO (v/v)		Resultados	
Pigmentos (volume/mL)	DMSO (volume/mL)	TA 98	TA 100
0,1 mL	0,9 mL	não tóxico	não tóxico
0,2 mL	0,8 mL	não tóxico	não tóxico
0,4 mL	0,6 mL	não tóxico	não tóxico
0,6 mL	0,4 mL	não tóxico	não tóxico
0,8 mL	0,2 mL	não tóxico	não tóxico
1,0 mL	0,0 mL	não tóxico	não tóxico

Fonte: Elaboração própria

O método escolhido para a realização do teste Ames foi o de incorporação em placas com prévia incubação Figura 7, sendo este o recomendado pela literatura (MORTELMANS; ZEIGER, 2000; UMBUZEIRO; VARGAS, 2003). O teste foi realizado na presença e na ausência de ativação metabólica com as linhagens TA97a, TA98, TA100 e TA102.

Figura 7 - Esquema do Teste de Ames. Método de incorporação em placas com prévia incubação

Fonte: Umbuzeiro e Vargas (2003) modificado

O teste de incorporação em placas consiste na exposição das linhagens de *S. typhimurium* e a amostra a testar em placa de ágar glicose mínimo na presença e ausência do sistema de ativação metabólica mistura S9 de acordo com a metodologia de incubação prévia, desenvolvida por Maron e Ames (1983). O método de pré-incubação (MARON; AMES, 1983) é caracterizado por uma etapa de incubação antes do plaqueamento. As culturas de bactérias e a mistura contendo a amostra teste, em presença e ausência do sistema de metabolização, são previamente incubadas por período de 20-30 min a 37 °C.

Primeiramente realizou-se a identificação dos tubos, na sequência, adicionou-se a amostra. Embora as suspensões não tenham se mostrado tóxicas, mesmo sem qualquer diluição, optou-se por tomar 0,2 mL de cada amostra e solubilizar em 0,8mL

de dimetilsulfóxido (DMSO), para facilitar a leitura das colônias devido à cor escura dos pigmentos. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Na sequência, adicionaram-se os controles negativos e positivos, nos tubos correspondentes. A presença desses controles é importante para assegurar a capacidade de resposta da linhagem e a eficácia do sistema de ativação metabólica. Como controle negativo, utilizou-se o DMSO, na máxima dose de amostra utilizada no teste. Utilizaram-se como controles positivos, compostos mutagênicos em concentrações definidas (TABELA 3). Em seguida, adicionou-se o tampão fosfato e a bactéria, em todos os tubos, inclusive nos controles. Os tubos foram colocados na estufa, para uma prévia incubação de 20-30 min a 37 °C.

Depois de cumprido o tempo de incubação, adicionou-se 2,0 mL de top Agar a 45 °C, suplementado com solução de biotina/histidina, em todos os tubos. Os tubos foram homogeneizados e vertidos sobre a superfície da placa contendo ágar glicose mínimo. Com a solidificação do top ágar, as placas foram incubadas invertidas, por 48 h a 37 °C. Depois de cumprido o tempo desta segunda incubação, procede-se, então, à contagem do número de revertentes por placa. Os ensaios com ativação metabólica seguem o mesmo procedimento descrito anteriormente, porém, em uma das etapas, inverte-se apenas o tampão fosfato pela adição da fração S9.

4.6.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS PARA TESTE AMES

Os resultados foram analisados utilizando o programa estatístico Salanal (*U.S.Environmental Protection Agency, Monitoring Systems Laboratory, Las Vegas, NV, versão 1.0, do Research Triangle Institute, RTP, Carolina do Norte, EUA*), adotando o modelo de Bernstein *et al.*, (1982). Os dados (revertentes/placa) foram avaliados pela análise de variância (ANOVA), seguido de uma regressão linear. O índice de mutagenicidade (IM) também foi calculado para cada concentração testada, de acordo com a fórmula a seguir (Eq. 2).

$$IM = \frac{\text{número de revertente}_{\text{placa com a amostra (revertentes induzidas)}}}{\text{número de revertentes}_{\text{placa do controle negativo}}} \quad (\text{Eq. 2})$$

A amostra é considerada mutagênica quando a relação dose/resposta entre as concentrações testadas e o número de revertentes induzidos e/ou quando o IM foi

maior ou igual a dois em pelo menos uma das doses testadas (MORTELMANS; ZEIGER, 2000).

O número de revertentes no controle negativo é a taxa de reversão espontânea obtida nas condições do ensaio. Ao tratar essa mesma cultura com doses crescentes do agente com atividade mutagênica, o número de revertentes por placa aumenta, proporcionalmente ao aumento das doses de exposição, até um platô, no qual as doses aplicadas são letais para as células por causarem excesso de danos ao DNA.

Os dados podem ser calculados através do *software* SALANAL (Salmonella Assay Analysis, v. 1.0; *Integrated Laboratory Systems, Research Triangle Park, NC, USA*), desenvolvido especificamente para análise estatística do teste de Ames, que inclui análise de variância (ANOVA) e regressão linear, que consiste na retirada de uma ou mais doses da análise usando somente os resultados que representam a porção linear da curva dose-resposta (OLIVEIRA, 2005).

Graficamente, os resultados são expressos por meio da curva dose-resposta, estabelecendo-se na abscissa as concentrações da amostra e na ordenada o número de revertentes induzidos em cada dose. Em geral, diferenças significativas entre doses testadas, o controle negativo e a relação dose-resposta, comprovadas estatisticamente, indicam atividade mutagênica da amostra.

Por outro lado, para as linhagens TA98, TA100, TA102 e TA97a, índices menores do que 2 acompanhados de ANOVA significativa e efeito dose, resposta reprodutível, indicam que a amostra apresenta indícios de mutagênese (VARGAS; MOTTA; HENRIQUES, 1993).

A resposta é considerada negativa quando a ANOVA não for significativa nem for observado um efeito dose-resposta.

5 RESULTADOS

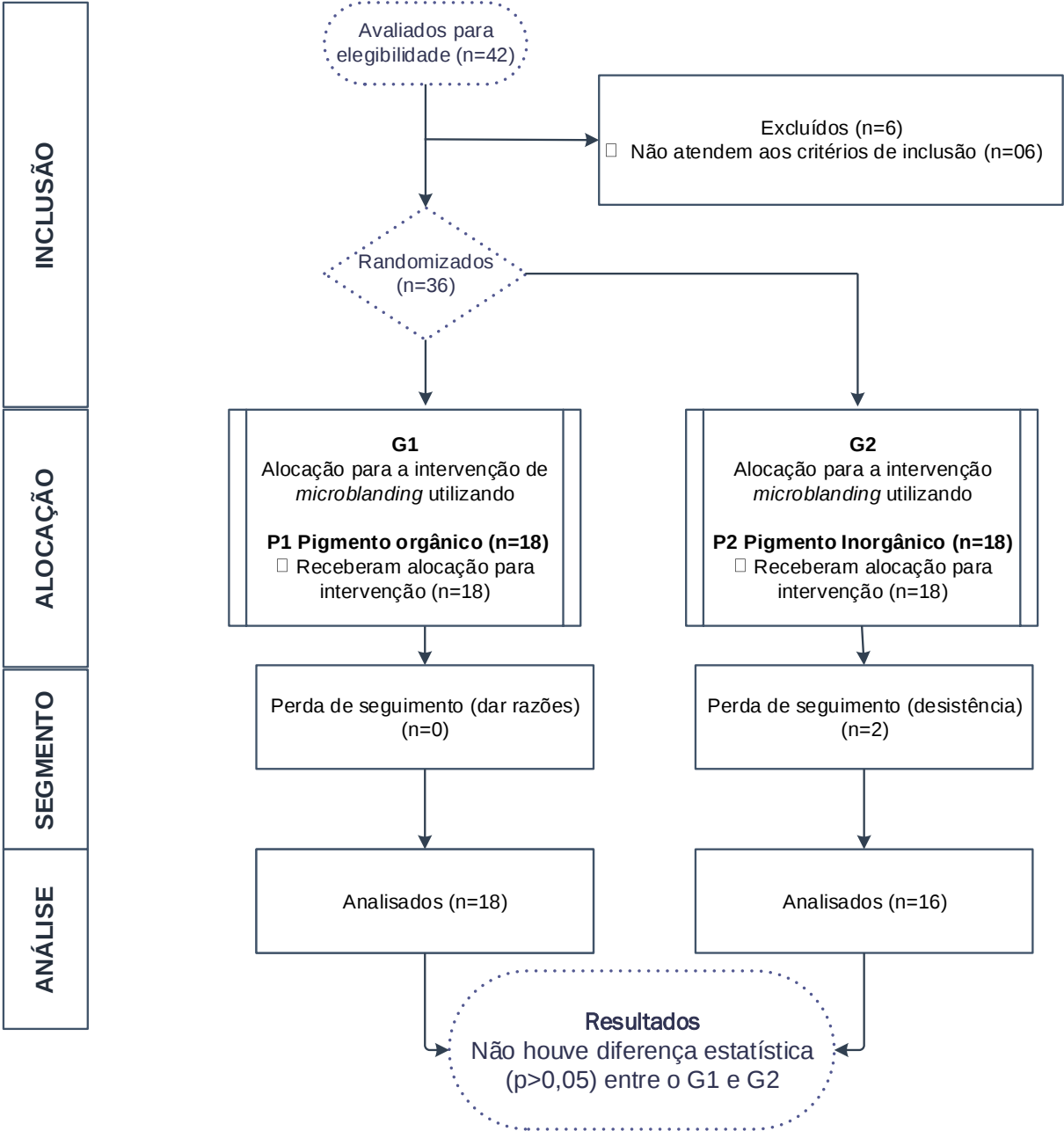
5.1 DIAGRAMA DE FLUXO CONSORT 2010

O diagrama de fluxo das fases de intervenção (inclusão, alocação, segmento e análise) é mostrado na figura 8.

Do total de 42 candidatas entrevistadas, seis foram excluídas por não atenderem os critérios de inclusão, por exemplo, como a idade. O grupo um (G1) foi referente à intervenção com pigmento orgânico, e o grupo dois (G2) referente ao pigmento inorgânico (FIGURA 8).

Na terceira etapa foram registradas duas desistências no G2 por motivos aleatórios ao estudo, sendo que um sujeito de pesquisa cumpriu até a etapa II (avaliação anamnética) e outro cumpriu até a etapa IV (avaliação de dois meses) (FIGURA 8). Assim, os resultados do G1 e do G2 foram obtidos a partir de 18 e 16 sujeitos de pesquisa, respectivamente (FIGURA 8).

Figura 8 - Diagrama de fluxo do processo através das fases do estudo randomizado paralelo de dois grupos.



Fonte: Elaboração própria

5.2 DESCRIÇÃO DA AVALIAÇÃO ANAMNÉTICA EM FUNÇÃO DOS GRUPOS

Após a EII (avaliação anamnética), foi possível verificar as características de pele dos participantes, que foram descritas na (TABELA 5).

Tabela 5 - Síntese da avaliação anamnética

GRUPO	Nº	FOTOTIPO		TEMPERATURA			PIGMENTO		TIPO DE PELE			DERMATITES	
		CLARO	ESCURO	QUENTE	FRIA	NEUTRA	CLARO	ESCURO	MISTA	OLEOSA	SECA	SIM	NÃO
G1	18	16	2	4	12	2	1	17	17	0	1	1	17
G2	18	12	6	5	11	2	1	16	11	6	1	4	14

Legenda: G1 (recebeu pigmento orgânico) e G2 (recebeu pigmento inorgânico)

Fonte: Elaboração própria

Com relação ao tom de pele, foi verificado que a maioria dos sujeitos tem pele clara, independente do grupo estudado. Para descrever melhor o tom de pele, também foi analisado o fototipo da pele desses participantes, seguindo o protocolo do médico americano, o Dr. Fitzpatrick (1975).

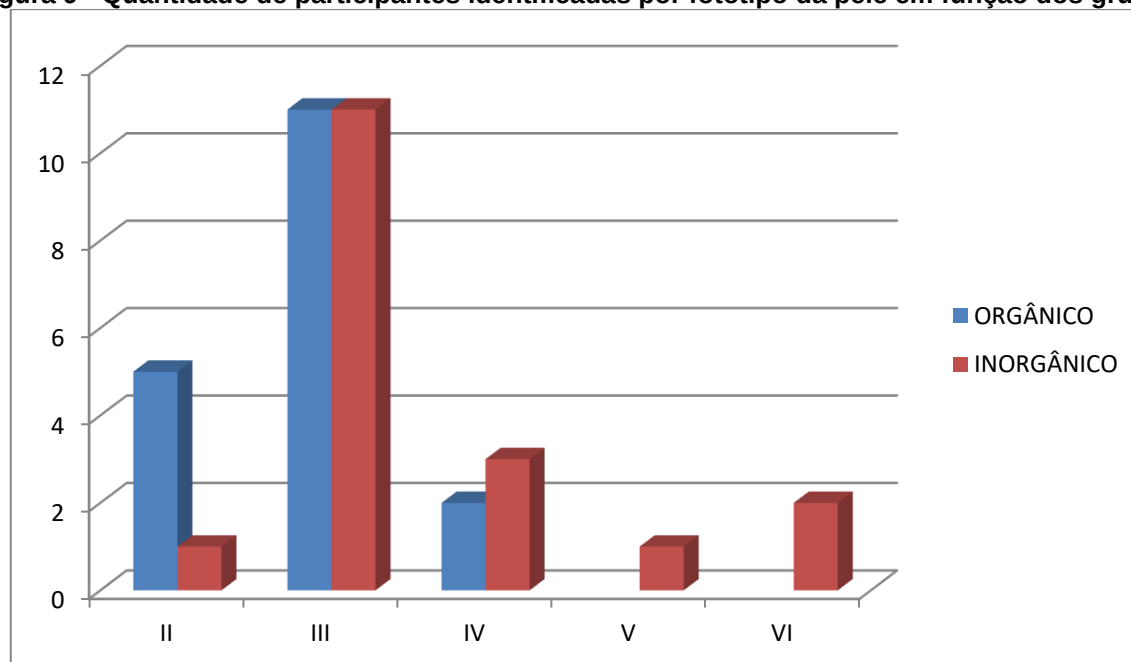
No G1 foram encontrados cinco indivíduos com fototipo II, onze com fototipo III, e dois com o fototipo IV; e no G2 foi encontrado um indivíduo com fototipo II, onze com o fototipo III, três com fototipo IV, um com fototipo V, e dois com fototipo VI de acordo com o exposto na Figura 9. Vale lembrar que os fototipos I, II e III são referentes à pele clara e os fototipos IV, V e VI são de tons mais escuros.

Outra característica importante da avaliação anamnética é a identificação da temperatura da pele com relação ao subtom de cor, sendo classificada como quente, fria e neutra. Philip Halawell (2009) conceitua a temperatura quente como uma cor superficial da pele amarela e vermelha e com cor de base terra de siena natural e verde terra (em seu tom de fundo). A temperatura fria ela tem cor superficial amarela e vermelha, mas a cor de base é azul e roxa. E a neutra com cor superficial amarela e marfim e com cor de base roxo e azul. Neste estudo, o G1 apresentou quatro indivíduos com temperatura quente, doze frias e duas neutras. O G2 obteve cinco sujeitos com temperatura quente, onze frias e duas neutras (TABELA 5).

A base do pigmento a ser utilizado deve ser adequada ao fototipo e temperatura correspondente, para se ter sucesso no resultado final da tatuagem estética. Por exemplo, um pigmento de base quente numa pele de temperatura quente e clara pode gerar um resultado de cor avermelhada, que não representa um bom resultado final. Para se ter um resultado satisfatório a escolha do tom do pigmento deve ser

neutralizada na mesma profundidade da cor da pele, resultando numa escala de tons de marrom.

Figura 9 - Quantidade de participantes identificadas por fototipo da pele em função dos grupos



Fonte: Elaborado pela pesquisadora

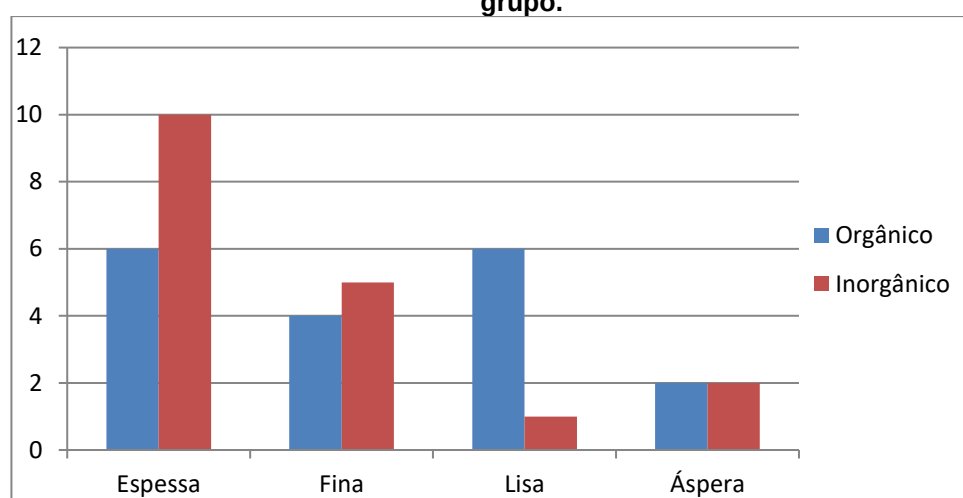
Com relação ao tipo de pele, o G1 não apresentou sujeitos com pele do tipo oleosa, no entanto no tipo de pele mista foram encontrados dezessete indivíduos e do tipo de pele seca um. No G2, foram identificados seis sujeitos com pele do tipo oleosa, onze com pele mista e um com pele seca (TABELA 5).

O tipo de pele está relacionado com a absorção do pigmento e consequentemente a durabilidade da tatuagem cosmética na pele. A pele oleosa por secretar pelas glândulas sebáceas uma quantidade excessiva de óleo apresenta uma dificuldade maior em reter o pigmento da intervenção. Em longo prazo há uma perda de cor, ou seja, menor fixação de pigmentos na pele. Ao contrário da pele seca que irá absorver melhor e por mais tempo a pigmentação (GIARETTA, 2016).

Outro fator relacionado à fixação do pigmento é identificação de dermatites seborreica na pele. Neste estudo, foi verificado que o G1 somente um sujeito apresentou dermatites, e no G2 foram quatro casos encontrados (TABELA 5). O aparecimento de dermatite causa a descamação da pele no nível do pigmento, o qual irá promover a renovação da pele e consequentemente a perda de pigmento da tatuagem cosmética ao longo do tempo.

A durabilidade e fixação do pigmento podem estar relacionadas com textura da pele e a técnica empregada no procedimento de tatuagem cosmética (POON *et al.*, 2008). No grupo um pigmento orgânico no que diz respeito à textura da pele (espessa, fina, lisa e áspera), foi encontrado seis indivíduos com pele do tipo espessa, quatro do tipo fina, seis do tipo lisa e duas do tipo áspera. No G2 pigmento inorgânico com a textura da pele (espessa, fina, lisa e áspera) com o do tipo espessa dez indivíduos, cinco indivíduos do tipo fina, um indivíduo do tipo lisa e dois indivíduos do tipo áspera (FIGURA 10).

Figura 10 - Quantidade de participantes identificadas por tipo de textura da pele em função do grupo.



Fonte: Elaboração própria

Através da avaliação anamnética foi possível identificar as diferentes características e tipos de peles nos sujeitos de pesquisa, e segundo Poon e colaboradores (2008), esses aspectos podem influenciar no processo da percepção da cor devido aos efeitos de dispersão da luz às áreas da pele.

5.3 ANÁLISE DA FOTOGRAFIA DIGITAL PADRONIZADA

Através do estudo foi possível analisar a tatuagem cosmética na área das sobrancelhas com a implantação de pigmentos orgânicos e inorgânicos, nos diferentes tipos de pele, no período de seis meses. Com o estudo foi possível verificar que os pigmentos orgânicos e inorgânicos ao longo do período sofrem degradação da cor superficial na pele (FIGURA 11 e FIGURA 12).

A análise quantitativa deste processo realizado pelo programa GIMP®, o qual inferiu valor a quantidade de pigmento na foto da sobrancelha analisada (FIGURA 13 e FIGURA 14).

O grupo 1 (pigmento orgânico) apresentou na EIII a média de $0,11 \pm 0,04$ %, na EIV $0,07 \pm 0,04$ % e na EV $0,07 \pm 0,03$ % de cor escura na imagem analisada (TABELA 6). Enquanto o G2 (pigmento inorgânico) obteve na EIII a média de $0,11 \pm 0,03$ %, na EIV $0,08 \pm 0,03$ % e na EV $0,06 \pm 0,04$ % de cor escura (TABELA 7).

Tabela 6 - Resultados quali-quantitativos utilizado o programa GIMP adotado para inferir valor numérico a quantidade de pigmento orgânico detectado por fotografia digital

I	ETAPA III (EIII) INTERVENÇÃO - FOTO 1 INICIAL		ETAPA IV (EIV) AVALIAÇÃO DE FOTO 2_2 MESES		ETAPA V (EV) AVALIAÇÃO DE FOTO 3_6 MESES	
	CONTAGEM	%	CONTAGEM	%	CONTAGEM	%
01	158177	0,06	82238	0,03	127786	0,05
02	329259	0,13	206398	0,08	197571	0,08
03	464056	0,18	284199	0,11	283182	0,11
04	297856	0,12	262367	0,10	292619	0,12
05	319135	0,13	170190	0,07	157633	0,06
06	356206	0,14	313841	0,12	149271	0,06
07	219320	0,09	73465	0,03	64087	0,03
08	408240	0,16	369878	0,15	232864	0,09
09	253542	0,10	170530	0,07	180363	0,07
10	317630	0,13	335352	0,13	303864	0,12
11	262798	0,10	129509	0,05	150840	0,06
12	279466	0,11	163381	0,06	126701	0,05
13	418966	0,17	128666	0,05	205708	0,08
14	313432	0,12	229657	0,09	206110	0,08
15	150433	0,06	58117	0,02	73009	0,03
16	116546	0,05	82448	0,03	34110	0,01
17	177398	0,07	120868	0,05	150081	0,06
18	234252	0,09	197049	0,08	99886	0,04
MÉDIA	282040	0,11	187675	0,07	168649	0,07
DP	96351	0,04	94731	0,04	77513	0,03

Fonte: Elaboração própria

Tabela 7 - Resultados quali-quantitativos utilizado o programa GIMP adotado para inferir valor numérico a quantidade de pigmento inorgânico detectado por fotografia digital

I	ETAPA III (EIII) INTERVENÇÃO - FOTO 1 INICIAL		ETAPA IV (EIV) AVALIAÇÃO DE FOTO 2_2 MESES		ETAPA V (EV) AVALIAÇÃO DE FOTO 3_6 MESES	
	CONTAGEM	%	CONTAGEM	%	CONTAGEM	%
01	171540	0,07	150541	0,06	112447	0,04
02	333503	0,13	183210	0,07	112233	0,04
03	316559	0,13	205703	0,08	127974	0,05
04	312435	0,12	280284	0,11	264482	0,10
05	369721	0,15	332642	0,13	245968	0,10
06	465854	0,18	314058	0,12	297345	0,12
07	144103	0,06	10204	0,00	7426	0,00
08	312806	0,12	149527	0,06	202350	0,08
09	211666	0,08	199305	0,08	220636	0,09
10	223365	0,09	192522	0,08	110049	0,04
11	252462	0,10	265659	0,11	178485	0,07
12	348604	0,14	246371	0,10	-	-
13	319090	0,13	318444	0,13	281168	0,11
14	270054	0,11	182245	0,07	161584	0,06
15	138826	0,05	67460	0,03	108298	0,04
16	251693	0,10	253740	0,10	123515	0,05
17	239767	0,09	128963	0,05	72030	0,03
18	-	-	-	-	-	-
MÉDIA	275415	0,11	204758	0,08	164124	0,06
DP	85188	0,03	88161	0,03	81845	0,04

Fonte: Elaboração própria

Figura 11 - Registro fotográfico da área de sobrancelhas dos sujeitos de pesquisa alocados para intervenção *microblading* com pigmentos orgânicos

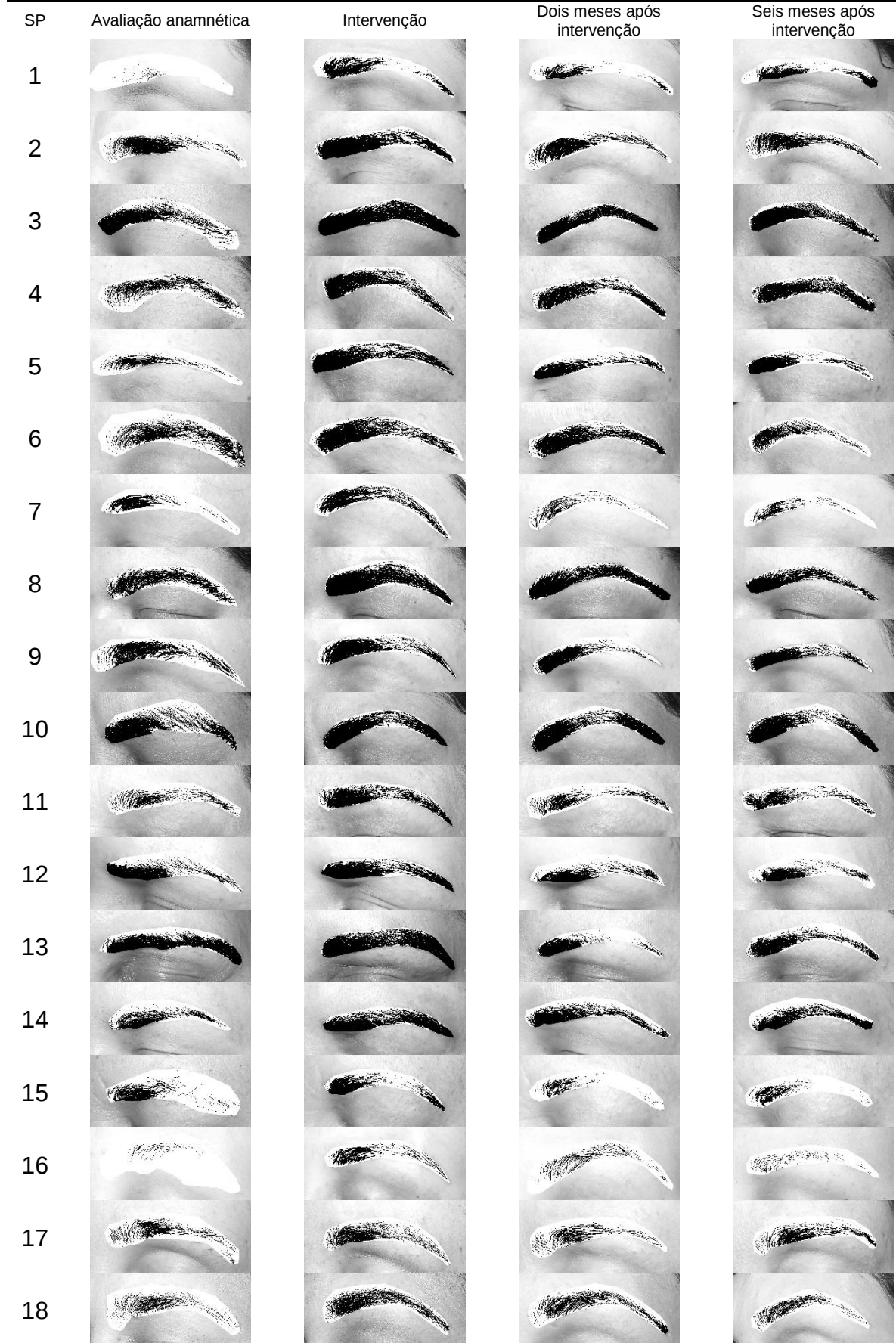
SP	Avaliação anamnética	Intervenção	Dois meses após intervenção	Seis meses após intervenção
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				

Abreviação: Sujeito de pesquisa (SP). Fonte: Elaboração própria

Figura 12 - Registro fotográfico da área de sobrancelhas dos sujeitos de pesquisa alocados para intervenção *microblading* com pigmentos inorgânicos

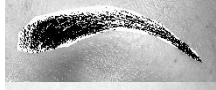
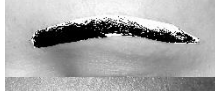
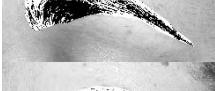
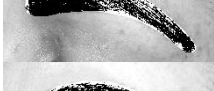
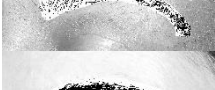
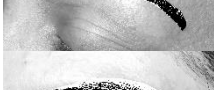
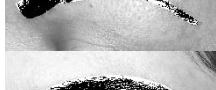
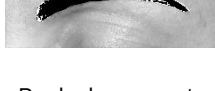
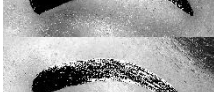
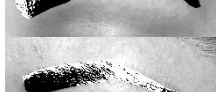
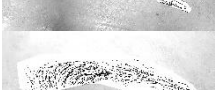
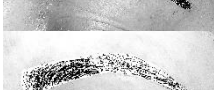
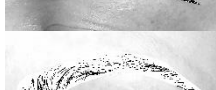
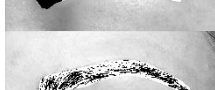
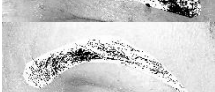
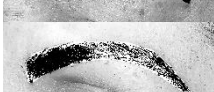
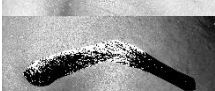
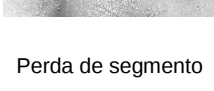
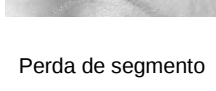
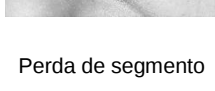
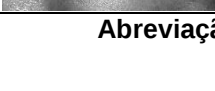
SP	Avaliação anamnética	Intervenção	Dois meses após intervenção	Seis meses após intervenção
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				Perda de seguimento
13				
14				
15				
16				
17				
18		Perda de seguimento	Perda de seguimento	Perda de seguimento

Abreviação: Sujeito de pesquisa (SP). Fonte: Elaboração própria

Figura 13 - Análise de fotografia digital pelo programa GIMP, exemplo de sujeito do G1

Abreviação: Sujeito de pesquisa (SP). Fonte: Elaboração própria

Figura 14 - Análise de fotografia digital pelo programa GIMP, exemplo de sujeito do G2

P	Avaliação anamnética	Intervenção	Dois meses após intervenção	Seis meses após intervenção
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				Perda de segmento
13				
14				
15				
16				
17				
18		Perda de segmento	Perda de segmento	Perda de segmento

Abreviação: Sujeito de pesquisa (SP). Fonte: Elaboração própria

A fotografia digital foi analisada em três momentos, sendo que nas EIII, EIV e EV foram capturadas as primeiras, segundas e terceiras fotografias digitais, respectivamente. Desta forma foi possível capturar e quantificar tudo que foi escuro relacionado ao pigmento na área da sobrancelha para inferir o valor numérico para o cálculo no programa GIMP (GNU *Image Processing*).

Pelos testes de normalidade (APÊNDICES C, D, E, F, G, H) existe forte evidência de que os resultados Tabelas 8 e 9 provêm de uma distribuição Normal.

O teste T, para amostras independentes, foram utilizados para comparar *microblading* com pigmentos orgânicos e inorgânicos nas etapas III, IV e V de análise; e sugerem, com 95% de certeza, que não houve diferença significativa entre a quantidade de cor escura nas imagens das etapas III, IV e V, pois resultaram em P-valor > 0,05 (respectivamente, 0,83, 0,58 e 0,87 de acordo com as Tabelas 8, 9 e 10).

A partir desses resultados foi possível avaliar com segurança (de 95 %) e de forma confiável que não houve diferença na fixação cutânea entre os pigmentos orgânicos e inorgânicos. Foi possível afirmar a ocorrência da oscilação da cor em ambos os grupos na etapa (IV) e (V), período que a cor se mostrou mais intensa na (EV) comparando com a (EIV), o que fundamenta que a cor pode evidenciar após algum tempo dependendo dos diferentes tipos e classificação da pele.

Tabela 8 - Teste T para amostras independentes - comparação entre *microblading* com pigmentos orgânicos e inorgânicos na etapa III de análise

Resultados	
Estatística T	0,2150035
Graus de Liberdade	33
P-valor	0,8310878
Média da Amostra 1	282039,6
Média da Amostra 2	275414,6
Desvio Padrão da Amostra 1	96351,28
Desvio Padrão da Amostra 2	85188,04
Desvio Padrão Agrupado	91109,77
Tamanho da Amostra 1	18
Tamanho da Amostra 2	17
Hipótese Alternativa Diferente de	0
Nível de Confiança	95%
Limite Inferior	-56065,17
Limite Superior	69315,11

Fonte: Elaboração própria

Tabela 9 - Teste T para amostras independentes - comparação entre *microblading* com pigmentos orgânicos e inorgânicos na etapa IV de análise

Resultados	
Estatística T	-0,5513885
Graus de Liberdade	33
P-valor	0,5850819
Média da Amostra 1	187675,2
Média da Amostra 2	204757,5
Desvio Padrão da Amostra 1	94731,28
Desvio Padrão da Amostra 2	88160,94
Desvio Padrão Agrupado	91604,53
Tamanho da Amostra 1	18
Tamanho da Amostra 2	17
Hipótese Alternativa Diferente de	0
Nível de Confiança	95%
Limite Inferior	-80112,93
Limite Superior	45948,21

Fonte: Elaboração própria

Tabela 10 - Teste T para amostras independentes - comparação entre *microblading* com pigmentos orgânicos e inorgânicos na etapa V de análise

Resultados	
Estatística T	0,1654962
Graus de Liberdade	32
P-valor	0,8695946
Média da Amostra 1	168649,2
Média da Amostra 2	164124,4
Desvio Padrão da Amostra 1	77513,17
Desvio Padrão da Amostra 2	81845,44
Desvio Padrão Agrupado	79573,29
Tamanho da Amostra 1	18
Tamanho da Amostra 2	16
Hipótese Alternativa Diferente de	0
Nível de Confiança	95%
Limite Inferior	-51166,51
Limite Superior	60216,09

Fonte: Elaboração própria

5.4 TESTE AMES

O estudo de avaliação de mutagenicidade através do Teste de Ames (*Salmonella*/Microsoma) para os pigmentos orgânicos (P1) e pigmentos inorgânicos P2 são mostrados nas Tabelas 11A (P1, -S9), 11B (P1+S9), 12A (P2, -S9) e 12B (P2, +S9), a seguir.

Em todos os ensaios os controles estiveram nos padrões preconizados o que confere confiabilidade nos resultados obtidos das amostras.

A Tabela 11A ilustra os resultados obtidos com o pigmento P1, sem ativação metabólica (-S9), que não apresentou mutagenicidade ($IM \geq 2$), nem qualquer indício de mutagenicidade para quaisquer das cepas testadas. Quando o pigmento P1 foi submetido ao sistema metabolizador S9 Tabela 11B, os índices de mutagenicidade também não apresentaram valores ≥ 2 , em quaisquer das cepas testadas, mostrando que o pigmento orgânico não forma produtos intermediários por enzimas microsomais hepáticas, que poderia elevar sua toxicidade.

O pigmento P2, de origem inorgânica, quando submetido ao teste de mutagenicidade sem ativação metabólica Tabela 12A também se mostrou bastante seguro, não causando reversão sobre as cepas testadas.

O pigmento P2, quando submetido ao sistema de ativação metabólica Tabela 12B não apresentou nenhum valor de $IM \geq 2,0$ mostrando que a biotransformação

microsomal não produziu produtos intermediários tóxicos, sendo composto de uso seguro.

Na realização do teste Ames de toxicidade e mutagenicidade os pigmentos orgânicos e inorgânicos não apresentam nenhum risco no uso.

Tabela 11 - Índices de Mutagenicidade (IM) calculados a partir dos valores médios $\pm$ DP das triplicatas do crescimento de colônias revertentes frente às cepas TA97a, TA98, TA100 e TA102 (-S9) – Pigmento Orgânico RB Kollors

Tabela A									Tabela B								
SUSPENSÃO AQUOSA DE PIGMENTOS ESTERILIZADOS POR RAIOS GAMA "LINHA ORGÂNICA RB KOLLORS"																	
TA97 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA97 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	978	143	141	134	98	96	99	127	Leitura 1	2496	165	183	182	160	141	130	129
Leitura 2	742	133	162	96	98	97	100	161	Leitura 2	2321	155	181	170	166	150	140	136
Leitura 3	842	138	160	101	104	86	95	140	Leitura 3	2398	148	172	181	172	158	136	139
Média	854	138	154	110	100	93	98	143	Média	2405	156	179	178	166	150	135	135
DP	118	5	12	21	3	6	3	17	DP	88	9	6	7	6	9	5	5
IM				1	1	1	1	1	IM				1	1	1	1	1
TA98 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA98 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	658	23	24	20	18	20	18	27	Leitura 1	2008	42	36	45	40	31	38	35
Leitura 2	702	23	23	29	21	19	17	30	Leitura 2	2126	38	37	42	42	34	36	30
Leitura 3	908	22	27	17	21	23	20	25	Leitura 3	2094	35	34	39	36	33	32	31
Média	756	23	25	22	20	21	18	27	Média	2076	38	36	42	39	33	35	32
DP	133	1	2	6	2	2	2	3	DP	61	4	2	3	3	2	3	3
IM				1	1	1	1	1	IM				1	1	1	1	1
TA100 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA100 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	1412	132	116	117	112	99	98	96	Leitura 1	1480	153	175	189	180	175	160	138
Leitura 2	1328	136	136	103	89	91	97	95	Leitura 2	1395	158	181	176	183	178	164	132
Leitura 3	1500	142	116	110	98	110	111	114	Leitura 3	1436	162	178	180	176	181	159	149
Média	1413	137	123	110	100	100	102	102	Média	1437	158	178	182	180	178	161	140
DP	86	5	12	7	12	10	8	11	DP	43	5	3	7	4	3	3	9
IM				1	1	1	1	1	IM				1	1	1	1	1
TA102 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA102 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	1200	268	281	196	178	192	178	167	Leitura 1	1412	289	283	242	244	275	229	224
Leitura 2	1284	277	315	176	166	181	173	169	Leitura 2	1320	273	280	248	246	262	231	220
Leitura 3	1126	243	238	244	179	170	181	165	Leitura 3	1366	264	276	251	248	269	226	234
Média	1203	263	278	205	174	181	177	167	Média	1366	275	280	247	246	269	229	226
DP	79	18	39	35	7	11	4	2	DP	46	13	4	5	2	7	3	7
IM				1	1	1	1	1	IM				1	1	1	1	1

Fonte: Elaboração própria

Tabela 12 - Índices de Mutagenicidade (IM) calculados a partir dos valores médios $\pm$ DP das triplicatas do crescimento de colônias revertentes frente às cepas TA97a, TA98, TA100 e TA102 (-S9)

Tabela A									Tabela B								
SUSPENSÃO DE PIGMENTOS "LINHA GOLD MAG COLOR"																	
TA97 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA97 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	978	161	160	143	152	131	145	154	Leitura 1	2496	142	159	144	142	143	146	128
Leitura 2	742	158	161	125	138	154	155	146	Leitura 2	2321	151	144	142	137	139	152	144
Leitura 3	842	147	164	140	151	121	131	143	Leitura 3	2398	139	136	150	152	136	132	140
Média	854	155	162	136	147	135	144	148	Média	2405	144	146	145	144	139	143	137
DP	118	7	2	10	8	17	12	6	DP	88	6	12	4	8	4	10	8
IM				1	1	1	1	1	IM				1	1	1	1	1
TA98 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA98 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	658	35	34	26	27	31	23	27	Leitura 1	2008	24	22	18	24	18	30	19
Leitura 2	702	37	30	22	20	17	19	24	Leitura 2	2126	26	32	28	22	29	24	22
Leitura 3	908	25	24	32	28	20	22	25	Leitura 3	2094	28	21	23	29	30	27	29
Média	756	32	29	27	25	23	21	25	Média	2076	26	25	23	25	26	27	23
DP	133	6	5	5	4	7	2	2	DP	61	2	6	5	4	7	3	5
IM				0,8	0,8	0,7	0,7	0,8	IM				0,9	1,0	1,0	1,0	0,9
TA100 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA100 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	1412	115	145	132	138	124	135	93	Leitura 1	1480	140	153	132	155	148	166	156
Leitura 2	1328	144	135	203	151	167	111	119	Leitura 2	1395	139	137	141	150	139	150	143
Leitura 3	1500	135	147	109	128	93	128	123	Leitura 3	1436	146	173	139	148	141	142	150
Média	1413	131	142	148	139	128	125	112	Média	1437	142	154	137	151	143	153	150
DP	86	15	6	49	12	37	12	16	DP	43	4	18	5	4	5	12	7
IM				1,1	1,1	1,0	0,9	0,9	IM				1,0	1,1	1,0	1,1	1,1
TA102 - S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa	TA102 + S9	Contr +	Contr -	Contr espont	10 μ L/placa	20 μ L/placa	40 μ L/placa	60 μ L/placa	80 μ L/placa
Leitura 1	1200	340	376	326	338	348	362	376	Leitura 1	1412	352	396	291	303	282	317	285
Leitura 2	1284	333	394	333	348	360	400	410	Leitura 2	1320	352	330	310	351	312	381	315
Leitura 3	1126	316	387	301	324	336	382	438	Leitura 3	1366	330	358	324	218	331	290	331
Média	1203	330	386	320	337	348	381	408	Média	1366	345	361	308	291	308	329	310
DP	79	12	9	17	12	12	19	31	DP	46	13	33	17	67	25	47	23
IM				1	1	1	1	1	IM				1	1	1	1	1

Fonte: Elaboração própria

Tabela 13 - Revertentes / placa, desvio padrão e índice de mutagenicidade (entre parênteses) para as cepas TA98, TA100, TA102 e TA97 a de *S.typhimurium* após tratamento com várias doses de suspensão de pigmentos “linha RB Kollors”

Treatments		Número de revertentes (M ± DP) / placa e MI							
Linha RB Kollors	μL/plate	TA 98		TA 100		TA 102		TA 97a	
		- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
	0.0 ^a	23 ± 1	38 ± 4	137 ± 5	158 ± 5	263 ± 18	275 ± 13	138 ± 5	156 ± 9
	10.0	22 ± 6 (1.0)	42 ± 3 (1.1)	110 ± 7 (0.8)	182 ± 7 (1.2)	205 ± 35 (0.8)	247 ± 5 (0.9)	110 ± 21 (0.8)	178 ± 7 (1.1)
	20.0	20 ± 2 (0.9)	39 ± 3 (1.0)	100 ± 12 (0.7)	180 ± 4 (1.1)	174 ± 7 (0.7)	246 ± 2 (0.9)	100 ± 3 (0.7)	166 ± 6 (1.1)
	40.0	21 ± 2 (0.9)	33 ± 2 (0.9)	100 ± 10 (1.0)	178 ± 3 (1.1)	181 ± 11 (0.7)	269 ± 2 (1.0)	93 ± 6 (0.7)	150 ± 9 (1.0)
	60.0	18 ± 2 (0.8)	35 ± 3 (0.9)	102 ± 8 (0.7)	161 ± 3 (1.0)	177 ± 4 (0.7)	229 ± 3 (0.8)	98 ± 3 (0.7)	135 ± 5 (0.9)
	80.0	27 ± 3 (1.2)	32 ± 3 (0.8)	102 ± 11 (0.7)	140 ± 9 (0.9)	167 ± 2 (0.6)	226 ± 7 (0.8)	143 ± 17 (1.0)	135 ± 5 (0.9)
	Ctrol +	756 ± 133 ^b	2076 ± 61 ^e	1413 ± 86 ^c	1437 ± 43 ^e	1203 ± 79 ^d	1366 ± 46 ^f	854 ± 118 ^b	2405 ± 88 ^e

M ± DP = média e desvio padrão; MI = índice de mutagenicidade; Controle negativo: dimetilsulfóxido (DMSO - 50 μL / placa); Ctról + = Controle positivo - b4-nitro-o-fenilenodiamina (NOPD - 10,0 μg / placa - TA98, TA97a); azida de sódica (1,25 mg / placa - TA100); mitomicina (0,5 μg / placa - TA102), na ausência de S9 e e2-antramina (1,25 μg / placa - TA 97a, TA98, TA100); f2-aminofluoreno (10,0 μg / placa - TA102), na presença de S9.

Tabela 14 - Revertentes / placa, desvio padrão e índice de mutagenicidade (entre parênteses) para as cepas TA98, TA100, TA102 e TA97 a de *S. typhimurium* após tratamento com várias doses de suspensão de pigmentos “linha Gold MagColor”

Treatments		Número de revertentes (M ± DP) / placa e MI							
Linha Gold MagColor	μL/plate	TA 98		TA 100		TA 102		TA 97a	
		- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
	0.0 ^a	32 ± 6	26 ± 2	131 ± 15	142 ± 4	330 ± 12	345 ± 13	155 ± 7	144 ± 6
	10.0	27 ± 5 (0.8)	23 ± 5 (0.9)	148 ± 49 (1.1)	137 ± 5 (1.0)	320 ± 17 (1.0)	308 ± 17 (0.9)	136 ± 10 (0.9)	145 ± 4 (1.0)
	20.0	25 ± 4 (0.8)	25 ± 4 (1.0)	139 ± 12 (1.1)	151 ± 4 (1.1)	337 ± 12 (1.0)	291 ± 67 (0.8)	147 ± 8 (0.9)	144 ± 8 (1.0)
	40.0	23 ± 7 (0.7)	26 ± 7 (1.0)	128 ± 37 (1.0)	143 ± 5 (1.0)	348 ± 12 (1.1)	308 ± 25 (1.0)	135 ± 17 (0.9)	139 ± 4 (1.0)
	60.0	21 ± 4 (0.7)	27 ± 3 (1.0)	125 ± 12 (0.9)	153 ± 12 (1.1)	381 ± 19 (1.2)	329 ± 47 (1.1)	144 ± 12 (0.9)	143 ± 10 (1.0)
	80.0	25 ± 2 (0.8)	23 ± 5 (0.9)	112 ± 16 (0.9)	150 ± 7 (1.1)	408 ± 31 (1.2)	310 ± 23 (1.0)	148 ± 6 (1.0)	137 ± 8 (1.0)
	Ctrol +	756 ± 133 ^b	2076 ± 61 ^e	1413 ± 86 ^c	1437 ± 43 ^e	1203 ± 79 ^d	1366 ± 46 ^f	854 ± 118 ^b	2405 ± 88 ^e

M ± DP = média e desvio padrão; MI = índice de mutagenicidade; Controle negativo: dimetilsulfóxido (DMSO - 50 μL / placa); Ctról + = Controle positivo - b4-nitro-o-fenilenodiamina (NOPD - 10,0 μg / placa - TA98, TA97a); azida de sódica (1,25 mg / placa - TA100); mitomicina (0,5 μg / placa - TA102), na ausência de S9 e e2-antramina (1,25 μg / placa - TA 97a, TA98, TA100); f2-aminofluoreno (10,0 μg / placa - TA102), na presença de S9.

6 DISCUSSÃO

A durabilidade e fixação do pigmento estão diretamente relacionadas às características e tipos de pele, influenciando no processo da percepção da cor devido aos efeitos de dispersão da luz às áreas da pele (POON *et al.*, 2008). A avaliação anamnética é um passo importante para iniciar um procedimento de *microblading*, pois é nesse momento que o profissional identifica as características da pele e seleciona os melhores procedimentos, entre eles: tipo de técnica, tipo de pigmento, cor de pigmento, os cuidados pós intervenção, pois todos esses fatores podem interferir no resultado final, apontando a complexidade do procedimento da *microblading* (GIARETTA, 2016).

Conforme orientação da SPCP (2018), em seu folheto informativo sobre *microblading*, as partículas de pigmentos devem ser depositadas na derme e não na epiderme como muitos procedimentos preconizam. Com o processo de renovação da pele, se esse pigmento estiver nessa camada mais superficial (epiderme) ele desaparecerá da pele ao longo do tempo. Esse processo, foi investigado por Poon *et al.* (2008), em pele de suínos e também verificou o desprendimento do pigmento quando depositado na epiderme.

Na prática, o técnico de estética deve dosar a pressão da mão aplicada com o equipamento de tatuagem na pele, para se atingir a profundidade adequada e receber melhor resultado. A espessura da pele é um fator importante a ser identificado para se verificar a pressão aplicada na intervenção da *microblading*, pois as diferenças de espessura podem requerer diferente pressão sobre a pele (GIARETTA, 2016).

Realizar esse procedimento é tarefa difícil por lidar com pessoas, pois as orientação e cuidados no *home care* são necessários, mas nem sempre são levados em consideração. O cliente deve ser orientado a não coçar, não retirar as casquinhas, não tomar banhos de piscina ou mar, não tomar sol, retornar no período adequado para o retoque. O profissional deve estar preparado e esclarecer todas as ocorrências que poderão surgir após o procedimento no período da cicatrização (CUYPER, 2008). Tal situação pode ser desgastante e frustrante, pelas possíveis reclamações dos clientes, desmotivando o profissional a continuar exercendo a atividade.

Para poder corrigir possíveis falhas e intensificar a cor é fundamental e necessário ser paciente e respeitar o tempo da cicatrização para um novo procedimento do retoque, pois existe muitas variáveis com relação a estabilização do

pigmento na pele, e que embora o trabalho seja realizado por um profissional de excelência é impossível prever com consistência e confiabilidade a durabilidade e fixação do pigmento na pele (SPCP, 2018).

Neste estudo verificou-se a diminuição da quantidade de pigmento ao longo de seis meses, independentemente do tipo de pigmento (orgânico ou inorgânico), pois não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos.

É importante salientar que há resultados diferentes para peles com características diferentes; fototipo, temperatura da pele, tipo de pele, textura da pele, variável que não foi analisada neste estudo. Porém, quando observado os dados pode-se identificar que em alguns participantes a quantidade de cor escura na sobrancelha aumentou na última etapa. Fato que sugere novos estudos para estabelecer o tempo para o retoque com os pigmentos e a motivo da despigmentação da pele, deficiências de absorção da pele ou por razões externas (lavar o rosto, uso de outros produtos cosméticos ou farmacêuticos, etc.).

A análise dos dados pelo programa GIMP® foi importante para quantificar a suposta fixação de pigmentos na sobrancelha com *microblading*, porém o software discrimina a captura da quantidade de cor escura na imagem da fotografia digital, o que não significa exatamente a quantidade do tipo da substância pigmento orgânico e inorgânico implantada na pele. Porém, mesmo com essa limitação do programa foi possível observar diferenças nas etapas III, IV, V, no período de seis meses. Outro ponto importante a ser relatado na análise da foto foi a captura da sombra da pálpebra na foto. Após verificado esse ruído utilizou-se a seleção poligonal, que abrangeu somente a área da sobrancelha. Porém o cálculo foi feito na imagem toda da fotografia digital e não somente na área da sobrancelha, obtendo valores percentuais baixos ao que se refere à quantidade de cor escura.

Além da fixação dos pigmentos também foi analisada a segurança através da toxicidade e mutagenicidade na pele. De maneira geral, o teste Ames confirmou que não há risco para o usuário, pois não apresentou toxicidade nestes pigmentos usados no estudo.

A falta de informação da concentração exata do pigmento na formulação química pelos fabricantes foi uma das limitações deste estudo, pois a área da cosmetologia não informa a concentração das substâncias do produto o que deveria ser um direito do consumidor saber, pois qualquer nova substância deve passar pelos testes exigidos pela ANVISA. O que levou ao uso da concentração pura (sem diluição)

no teste preliminar de toxicidade. Por outro lado, a ausência de toxicidade na forma que o pigmento está destinado ao uso, já é motivo para se atribuir segurança aos pigmentos.

Embora com toda evolução tecnológica na área de tatuagem cosmética quanto aos pigmentos, equipamentos, técnicas, percebe-se que ainda existe falta de pesquisa e conhecimentos específicos e, principalmente, no que diz respeito a adequação e legalização área. A ANVISA exige o cumprimento dos testes de toxicidade e mutagenicidade para o registro dos pigmentos, mas ainda circula no mercado informal várias linhas de pigmento colocando em risco a segurança da população (VASOLD *et al.*, 2008; CUYPER, 2008). Segundo a FDA, a comunidade científica internacional tem se preocupado em investigar o uso e a segurança das tintas de tatuagem (FDA, 2012).

Neste sentido, justificado pela inexistência de dados na literatura sobre a toxicidade de pigmentos optou-se, neste estudo, pela avaliação de um teste de toxicidade, o teste Ames (Salmonella/microsossoma).

A origem orgânica ou inorgânica dos pigmentos não influenciou nos resultados de mutagenicidade. Ambos os pigmentos mostraram ser bastante seguros para o uso.

Como os pigmentos permanecem na pele a absorção sistêmica parece ser pequena, por isso o teste Ames representa uma vantagem, pois o teste é feito sobre cepas mutadas com vulnerabilidades e na presença ou não de ativação metabólica, e ainda assim, os pigmentos não se mostraram mutagênicos.

A área de tatuagem estética ainda carece de muito conhecimento, sendo este estudo apenas uma pequena parte do rol de variáveis que ainda podem ser investigadas. Novos estudos devem dar continuidade observando a interação entre as características da pele e fase de cicatrização, formas para remoção em caso de insatisfação, presença de dermatites e fixação e durabilidade de pigmentos, entre outros.

Dessa forma, o trabalho pôde esclarecer e contribuir positivamente com os profissionais que procuram por conhecimentos específicos da área e também para ser aplicado de forma concisa em diversas áreas do conhecimento da estética.

7 CONCLUSÃO

Avaliar a fixação cutânea dos pigmentos orgânicos e inorgânicos, por seis meses, não evidenciou diferença significativa ($p>0,05$) entre estes. Quanto ao teste de avaliação de toxicidade aplicado *in vitro*, foi possível demonstrar que ambos os tipos de pigmentos são seguros para utilização em *microblading*. Neste trabalho a padronização instrumental *made in house* e adaptação de *software* GIMP® possibilitou avaliar a quantidade de cor na pele, viabilizando a confiança nos dados obtidos. Este trabalho gerou dados científicos quali-quantitativos que podem contribuir com os profissionais da área de estética e cosmética, na forma de fundamentação teórica sobre tatuagem cosmética.

REFERÊNCIAS

- ACTION, P. **Distribuição t de Student.** <http://www.portalaaction.com.br/probabilidades/64-distribuicao-t-de-student>. Acesso em: 10 Ago.2017.
- ABIHPEC. Setor de cosméticos e higiene pessoal cresce 2,8%. p. <https://abihpec.org.br/2018/04/setor-de-cosmeticos-e-higiene-pessoal-cresce-28/>, 2018. Acesso em: 07.Set.2018.
- AMES, B. N. et al. **Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection.** Proc Natl Acad Sci USA. 70: 2281-2285 p. 1973.
- ASCH, C. **The microblanding bible.** Book Design: Bluebobo 2016.
- BARACUHY, R. **Da marginalização ao glamour: o corpo tatuado nas redes de poder-saber e jogos de verdade do discurso midiático - Estudos linguísticos.** 43. 2015.
- BRASIL. **Constituição Regulamentação da atividade de Micropigmentação de sobrancelhas - Pedido 2582000332 06/10/2015 - Acesso Concedido.** Governo do Brasil: <http://www.consultaesic.cgu.gov.br/busca/dados/Lists/Pedido/Item/displayifs.aspx?List=0c839f31-47d7-4485-ab65-ab0cee9cf8fe&ID=433403&Web=88cc5f44-8cfe-4964-8ff4-376b5ebb3bef> p. 2015.
- BRASIL. **LEI Nº 12.592/12.** Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2012/lei/l12592.htm. Acesso em 06. Jun.2017.
- BRASIL. **LEI Nº 13643.** http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2018/Lei/L13643.htm. Acesso em 06.Jun.2018 2018.
- BRASIL. **Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 55. de 6 de Agosto de 2008.** <http://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MzMzMg%2C%2C> 2008. Acesso em: 25.abr.2017
- COSTA, W. S. **Humanização, relacionamento interpessoal e ética.** 2004.
- CONSORT - 2010. Fluxo consort 2010. Consort Transparent Reporting of Trials, p. <http://www.consort-statement.org/consort-2010>, Acesso em: 06.dez.2018.
- CRQ. Conselho Regional de Química. Corantes e pigmentos. https://www.crq4.org.br/quimicaviva_corantespigmentos, 2011. Acesso em: 04.04.2018.
- CRUZ, R. F. Tatuagem: eterna, enquanto dura. Super interessante, p. <https://super.abril.com.br/tecnologia/tatuagem-eterna-enquanto-dura/>, 2016.
- CUYPER, C. D. **Permanent makeup: indications and complications.** Elsevier 2008.

DALL GOBBO, P.; GARCIA, C. S. **Estética Facial Essencial**. São Paulo: Atheneu, 2010.

DELANEY, D. M. **Microblading Regulations, Laws And Protocols**. Les Nouvelles estétiques & Spa 2017.

FESTA, C. N.; CUCÉ, L. C.; REIS, V. M. S. **Manual de Dermatologia**. 3. ed. Barueri, SP: Manole, 2013,

FDA. **Tattoos & Permanent Makeup: Fact Sheet**. FDA U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2012.

_____. **Tattoos and Permanent Makeup**. FDA Food and Drug Administration 2015.

FIESP. **Guia técnico ambiental Tintas e vernizes** 2006.

FITZPATRICK, T. B. Soleil et Peau. **J Med Esthet**, v. 2, n. 7, p. 33-34, 1975.

FRANQUILINO, É. **Supremacia da cor**. Cosmetics & Toiletries 2016.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. Cosméticos: A química da beleza. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), v. 1, p. 1-38, 2009.

GIARETTA, E. **Dermopigmentação Arte e Responsabilidade**. Itatiba - São Paulo. 2016.

HALLAWELL, P. **Visagismo Integrado: Identidade, Estilo e Beleza**. Editora Senac São Paulo. 2009.

INNOVATION, C. A beleza inclusiva impulsiona o mercado mundial de pigmentos para cosméticos. Cosmetic Innovation, p. <https://www.cosmeticinnovation.com.br/beleza-inclusiva-impulsiona-o-mercado-mundial-de-pigmentos-para-cosmeticos/>, 2018. Acesso em: 28. Ago.2018.

LEITE JÚNIOR, A. C. **Como vencer a queda capilar**. São Paulo: Ed. do Autor. 2012.

MARON, D. M.; AMES, B. N. **Revised methods for the *Salmonella mutagenicity* test. Mutation Research**. 113 173-215, p. 1983.

MARTINS, A.; MARTINS, M.; MARTINS, M. Micropigmentação, a beleza feita com arte. **São Paulo: Livraria Médica Paulista**, 2009.

MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. **The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutation Research**,. 455 29-60 p. 2000.

NEVES, K. As cores da Beleza. Revista - H&C - Household & Cosméticos, p. http://www.freedom.inf.br/revista/HC82/saz_cosmeticos_82.asp, 2018. Acesso em: 28.Ago.2018.

OLIVEIRA, A. L. et al. **Curso didático de estética: volume 1**. Yendis Editora, São Caetano do Sul, SP. 2008.

OLIVEIRA, D. P. **Corantes como importante classe de contaminantes ambientais - um estudo de caso. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)**: Universidade de São Paulo. São Paulo, SP: 121 p. 2005.

POON, K. W. C.; DADOUR, I. R.; J., M. A. **In situ chemical analysis of modern organic tattooing inks and pigments by micro-Raman spectroscopy**. JOURNAL OF RAMAN SPECTROSCOPY 2008.

PÉREZ, A. L. A identidade à flor da pele: etnografia da prática da tatuagem na contemporaneidade. **Mana**, v. 12, p. 179-206, 2006. ISSN 0104-9313.

REBELLO, T. **Guia de produtos cosméticos**. 6. São Paulo: Senac, 2005.

SANTOS, G. E. O. **Cálculo amostral**. Disponível em: <<http://www.calculoamostral.vai.la>>. Acesso em: 10 Ago. 2017.

SARON, C.; FELISBERTI, M. I. **Ação de colorantes na degradação e estabilização de polímeros** 2006.

SOAIGHER, K. A.; ACENCIO, F. R.; CORTEZ, D. A. G. **O poder da vaidade e do autocuidado na qualidade de vida** 2016.

SOARES, J. Mercado busca especialistas em cores em áreas como cosméticos e tintas. Folha de São Paulo, p. <https://www1.folha.uol.com.br/erro/404/>, 2016. Acesso em: 28.AGO.2018.

SPCP. Folha Informativa sobre Microblading. [https://www.spcp.org/information-for-technicians/spcp-guidelines/microblading-fact-sheet/Microblading Fact Sheet](https://www.spcp.org/information-for-technicians/spcp-guidelines/microblading-fact-sheet/Microblading%20Fact%20Sheet), 2018. Acesso em: 20.06.2018.

UMBUZEIRO, G. A.; VARGAS, V. M. F. **Mutagênese Ambiental. Teste de mutagenicidade com *Salmonella typhimurium* (teste de Ames) como indicador de mutagenicidade em potencial para mamíferos**. Editora da Ulbra. 2003. SBN 85-7528-067-08.

VARGAS, V. M. F.; MOTTA, W. E. P.; HENRIQUES, J. A. E. **Mutagenic activity detected by the Ames test in river water under the influence of petrochemical industries**. Mutation Research. 319 31-45 p. 1993.

VASOLD, R. et al. **Health risks of tattoo colors**. Springer-Verlag 2008.

WHO. Mental health: strengthening our response. p. World Health Organization (OMS Organização Mundial da Saúde), 2016. Acesso em: 16.06.2017.

YOSHIDA, E. H. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Uniso. **SEGURANÇA DE FITOQUÍMICOS ISOLADOS DE *Dipteryx alata* VOGEL SOB O PARÂMETRO DA MUTAGENICIDADE PELO TESTE DE AMES** 2014.

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE DE
SOROCABA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM MICROPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EM SOBRANCELHAS

Pesquisador: CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 77244717.3.0000.5500

Instituição Proponente: Universidade de Sorocaba

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.377.084

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa sobre a fixação cutânea e segurança de compostos utilizados em micropigmentação ou dermopigmentação cutânea. Trabalho de pesquisa para obtenção de grau de Mestre em Processos Tecnológicos, da Universidade de Sorocaba. O trabalho será realizado pela aluna Célia Marisa O. Ramos e orientado pela Profa. Dra. Valquíria Miwa Hanai Yoshida.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a fixação cutânea e segurança no uso dos pigmentos orgânicos e inorgânicos, em diferentes tipos de pele (oleosa, mista e seca), no período de seis meses. Especificamente pretende-se padronizar instrumentação, equipamento e software, para avaliar a fixação de pigmentos na pele e verificar citotoxicidade e mutagenicidade "in vitro" dos pigmentos na técnica de micropigmentação de sobrancelhas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em relação aos riscos pode ocorrer hipersensibilidade ao produto. Caso haja hipersensibilidade ao produto, o tratamento será interrompido e será feito o uso de creme com propriedades calmantes. O participante da pesquisa poderá sofrer desconfortos mínimos nas primeiras 24 h (sensação de ardência e inchaço, dependendo da sensibilidade da pele, podendo ser controlado com o uso de água boricada gelada. Após 24 h pode ocorrer aparecimento de crostas no local

Endereço: Rodovia Raposo Tavares, km 92,5

Bairro: Vila Artura

CEP: 18.023-000

UF: SP

Município: SOROCABA

Telefone: (15)2101-7101

Fax: (15)2101-7073

E-mail: cep@uniso.br

UNIVERSIDADE DE SOROCABA



Continuação do Parecer: 2.377.084

micropigmentado, que podem ser aliviadas com o uso óleo de girassol ou de amêndoas. Benefícios para o participante será que o mesmo receberá a micropigmentação de sobrancelha por profissional capacitado, o conhecimento sobre o seu protocolo e tipo de pele. Como benefícios gerais a pesquisa poderá alargar os conhecimentos na área de cosmetologia em relação a toxicidade de compostos utilizados em micropigmentação

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa foi bem estruturada e poderá contribuir para a área de cosmetologia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados adequadamente

Recomendações:

As recomendações em relação ao cronograma foram atendidas. Sugiro que empregue o termo participante da pesquisa no lugar de sujeito. Indicar a procedência dos pigmentos utilizados e seus respectivos registros no Ministério da Saúde.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado na Reunião do CEP no dia 09 de novembro de 2017. O pesquisador deverá submeter ao CEP Relatórios Parcial e Final, conforme normas obrigatórias da CONEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_974632.pdf	20/10/2017 10:50:05		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_ATUAL_CELIA.pdf	20/10/2017 10:44:45	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Outros	CRONOGRAMA_CELIA.pdf	20/10/2017 09:08:55	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Celia.pdf	22/09/2017 12:15:13	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Valquiria.pdf	22/09/2017 12:05:40	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Celia.pdf	22/09/2017 12:04:57	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito

Endereço: Rodovia Raposo Tavares, km 92,5
Bairro: Vila Artura **CEP:** 18.023-000
UF: SP **Município:** SOROCABA
Telefone: (15)2101-7101 **Fax:** (15)2101-7073 **E-mail:** cep@uniso.br

UNIVERSIDADE DE
SOROCABA



Continuação do Parecer: 2.377.084

Outros	Carta_autorizacao_celia.pdf	22/09/2017 11:58:25	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Outros	carta_apresentacao_celia.pdf	22/09/2017 11:57:59	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	07082017_Projeto_CEP.docx	19/08/2017 00:57:24	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Folha de Rosto	7_OK_Folha_de_rosto.pdf	19/08/2017 00:51:29	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Outros	OK_Anaminense_Micropigmentacao_Mes trado.pdf	19/08/2017 00:48:38	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito
Outros	2_OK_Modelo_autorizacao_de_uso_de imagem.docx	18/08/2017 12:15:20	CELIA MARISA DE OLIVEIRA RAMOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SOROCABA, 12 de Novembro de 2017

Assinado por:

Raquel de Mendonça Rosa Castro
(Coordenador)

Endereço: Rodovia Raposo Tavares, km 92,5

Bairro: Vila Artura

CEP: 18.023-000

UF: SP

Município: SOROCABA

Telefone: (15)2101-7101

Fax: (15)2101-7073

E-mail: cep@uniso.br

ANEXO B - SOLICITAÇÃO DOS ENSAIOS PREVISTOS NA RESOLUÇÃO RDC 55/2008, REFERENTE AOS PRODUTOS IMPLANTÁVEIS PARA DERMOPIGMENTAÇÃO DEFINITIVA



Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA
Gerência-Geral de Tecnologia de Produtos para a Saúde - GGTPS
Gerência de Tecnologia de Materiais de Uso em Saúde - GEMAT

NOTA TÉCNICA Nº 003/2009/GEMAT/GGTPS/ANVISA

1. **Objeto:** Solicitação dos ensaios previstos na Resolução RDC 55/2008, referente aos produtos implantáveis para dermopigmentação definitiva.

A Resolução RDC nº. 55, de 06 de agosto de 2008, que dispõe sobre o registro de produtos utilizados no procedimento de pigmentação artificial permanente da pele, e dá outras providências, determina em sua Parte 5, item 5.2, que para demonstração de segurança e eficácia dos produtos implantáveis deverão ser apresentados ensaios para verificação da citotoxicidade, genotoxicidade, toxicidade crônica e carcinogenicidade do produto, além do atendimento dos requisitos estabelecidos na Resolução Anvisa RDC nº. 56/01, ou norma que venha a substituí-la.

Os ensaios de citotoxicidade objetivam determinar a resposta biológica de células de mamíferos in vitro com o uso de parâmetros biológicos adequados (NBR ISO 10993-5), através da avaliação de dano celular por meios morfológicos e medições desses danos, do crescimento celular e de aspectos específicos do metabolismo celular. A norma de referência oferece diversas opções de testes que podem ser de contato direto com o dispositivo, indireto ou utilizando extratos. Todos estes poderão ser utilizados para a demonstração de que o produto não gera efeitos citotóxicos quando implantado.

Os ensaios de genotoxicidade objetivam avaliar experimentalmente a toxicidade genética de um dispositivo utilizando-se de testes in vitro. No item 4.1 – Generalidades da norma técnica de referência NBR ISO 10993-3, especifica-se que a série de testes deve conter no mínimo três ensaios, dois dos quais devem utilizar, preferencialmente, células de mamíferos, e recomenda-se que os testes englobem os três níveis de efeitos genotóxicos: efeitos sobre o DNA, mutações gênicas e aberrações cromossômicas. Os parâmetros normativos quanto ao número de ensaios e o tipo celular de teste devem ser seguidos para a demonstração da ausência de efeitos genotóxicos devido ao uso do implante, e deverão constar no laudo de ensaio que será entregue à Anvisa, acompanhados da descrição do método, parâmetros avaliados (incluindo a descrição das gradações utilizadas como referência) e conclusão.

Quanto aos ensaios de carcinogenicidade, existem duas justificativas sobre sua obrigatoriedade para verificação de segurança e eficácia de substâncias implantáveis de dermopigmentação:

ANEXO C - DISPÕE SOBRE O REGISTRO DE PRODUTOS UTILIZADOS NO PROCEDIMENTO DE PIGMENTAÇÃO ARTIFICIAL PERMANENTE DA PELE, E DÁ OUTRAS PROVIDÊNCIAS.

05/09/2017

Ministério da Saúde

ADVERTÊNCIA

Este texto não substitui o publicado no Diário Oficial da União



Ministério da Saúde
Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Origem:MS,ANVISA.
Norma:RDC-55
Letra:
Data de Assinatura:06/08/2008
Situação:VIGENTE

Verificação da vigência em
05/09/2017

Alterada pela RDC 64 - 2016

RESOLUÇÃO - RDC Nº 55, DE 6 DE AGOSTO DE 2008

Dispõe sobre o registro de produtos utilizados no procedimento de pigmentação artificial permanente da pele, e dá outras providências.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o inciso IV do art. 11 do Regulamento aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso II e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 5 de agosto de 2008, e

~~Considerando o risco sanitário dos produtos utilizados no procedimento de pigmentação em reunião realizada em 2008 e: artificial permanente da pele;~~

considerando o risco sanitário dos produtos utilizados no procedimento de pigmentação artificial permanente da pele; [\(Retificado pelo DOU Nº 155 de 13.08.2008, seção 1, pág. 82\)](#)

Considerando a necessidade de regulamentar a fabricação, importação e comercialização destes produtos;

Considerando os requisitos que devem ser cumpridos pelas empresas para solicitação do registro destes produtos; adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Fica aprovado o Regulamento Técnico que consta no anexo desta Resolução que trata do registro de produtos utilizados no procedimento de pigmentação artificial permanente da pele.

Art. 2º As empresas têm um prazo de 180 (cento e oitenta dias) para se adequarem ao estabelecido nesta Resolução.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

ANEXO

REGULAMENTO TÉCNICO PARA REGISTRO DE PRODUTOS UTILIZADOS NOS PROCEDIMENTOS DE PIGMENTAÇÃO ARTIFICIAL PERMANENTE DA PELE.

PARTE 1 - OBJETIVO

1.1 Este regulamento estabelece a obrigatoriedade de registro de produtos utilizados nos procedimentos de pigmentação artificial permanente da pele e os critérios para concessão destes registros.

PARTE 2 - DEFINIÇÕES

2.1 Pigmentação Artificial Permanente da Pele – pigmentação exógena implantada na camada dérmica ou na camada subepidérmica da pele, com o objetivo de embelezamento ou correção estética.

PARTE 3 - REFERÊNCIA

3.1 BRASIL. Lei nº. 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. Publicada no DOU - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 24 de setembro de 1976.

3.2 BRASIL. Decreto nº. 79.094, de 5 de janeiro de 1977, que regulamenta a Lei 6.360/76 de 23 de setembro de 1976, que submete ao sistema de vigilância sanitária os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos, cosméticos, produtos de higiene, saneantes e outros. Publicada no DOU - Diário Oficial da União; Poder Executivo, 7 de janeiro de 1977.

APÊNDICE A - MODELO DA FICHA ANAMNÉTICA

FICHA DE ANAMNÉSE MICROPIGMENTAÇÃO

Nome: _____ N.º: _____
 Endereço: _____ N.º: _____
 Bairro: _____ Cidade: _____
 CEP: _____ Fone: _____ Profissão: _____
 N.º. de Filhos: _____ Indicado por: _____ Emissão: _____
 RG.: _____ CPF.: _____

Disfunções - Saúde:

☐ Alergia	☐ Cardíaca	☐ Circulatórias	☐ *Diabete
☐ Prótese	☐ Dermatites	☐ Hipertensão	☐ *Hepatite
☐ Endócrino	☐ Epilepsia	☐ Ginecológica	☐ *Anemia
☐ Cirurgias	☐ Neurológicas	☐ *Diabete	☐ *Marca Passo
☐ Herpes	☐ *Neoplasia (CA)	☐ *HIV	☐ *Glaucoma

Quantas, e Quais ? _____

Antecedentes:

☐ Aspirina	☐ Cirurgia Plástica	☐ *Amamentando	☐ *Prod. Injetado
☐ Lente de Contato	☐ Portador de Pino	☐ *Trat. com Ácido	
☐ Medicamentos	☐ Quelóides	☐ *Gestante	

Quais? _____

Cotidiano:

Pratica Esporte? _____

☐ Sim

☐ Não

Quais? _____

Informações Faciais:

Faz uso de alguns cosméticos ? _____

☐ Sim

☐ Não

Quais? _____

Já faz algum tratamento facial ? _____

☐ Sim

☐ Não

Quais? _____

Exame Objetivo:

Cor:

☐ Amarela
☐ Branca
☐ Morena
☐ Negra

Lesões:

☐ Cicatriz
☐ Dermatites
☐ Sensibilidade
☐ Discromia (Mancha)

Superfície:

☐ Áspera
☐ Espessa
☐ Fina
☐ Lisa
☐ Rugosa

Temperatura da Pele:

☐ Quente
☐ Fria
☐ Neutra

Biot. Cutâneo:

☐ Pele Eudérmica (Normal)
☐ Pele Lipídica (Oleosa)
☐ Pele Mista
☐ Pele Alípica (Seca)
☐ Pele Sensível

Desidratada:

☐ Profunda
☐ Superficial

Fototipo Cutâneos:

☐ Foto tipo I	☐ Foto tipo IV
☐ Foto tipo II	☐ Foto tipo V
☐ Foto tipo III	☐ Foto Tipo VI

Cor escolhida pela cliente: _____

Viu abertura da agulha descartável: _____

CUIDADOS APÓS O PROCEDIMENTO:

1º) Manter o local limpo e fazer compressas de água boricada gelada se tiver incomodo.

2º) Usar óleo de girassol ou amendoas nos cinco primeiros dias, três vezes ao dia.

3º) Usar filtro solar.

4º) Não retirar a crosta.

5º) Não se expor ao sol e freqüentar: praia, piscina, sauna, locais poluídos e contaminados.

Termo de Responsabilidade

As declarações descritas no anverso, são expressões da verdade, não cabendo ao terapeuta responsabilidade alguma acerca de dados faltosos ou declarações enganosas, isentado o profissional de quaisquer indenizações ou outros meios judiciais, provenientes de prejuízos causados pelas referidas declarações.

_____/_____/_____
Data **Cliente** **Terapeuta**

Data	Observações
/	
/	
/	
/	
/	
/	
/	
/	
/	

Grupo	P1	P2	P3
Grupo I Pele Oleosa Pig. Organico			
Grupo II Pele Oleosa Pig. Inorganico			
Grupo III Pele Mista Pig. Organico			
Grupo IV Pele Mista Pig. Inorganico			
Grupo V Pele Seca Pig. Organico			
Grupo VI Pele Seca Pig. Inorganico			

APÊNDICE B - MODELO DO TERMO DE RESPONSABILIDADE



Universidade de Sorocaba

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(a) Sr(a) está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) desta pesquisa. A sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, poderá desistir e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a Instituição.

O(a) Sr(a) assinará duas vias originais deste termo, onde constam o telefone e endereço do pesquisador(a) responsável e equipe de pesquisa, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação. Uma via ficará com o(a) Sr(a) e a outra ficará conosco.

TÍTULO DA PESQUISA: PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM MICROPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EM SOBRANCELHAS

PESQUISADORA RESPONSÁVEL: Célia Marisa de Oliveira Ramos

ENDEREÇO: Av. Américo de Carvalho, 275, Jd. Europa, Sorocaba – SP

TELEFONE: (15) 99688-7576

PESQUISADOR PARTICIPANTE: Profa. Dra. Valquíria Miwa Hanai Yoshida

ENDEREÇO: Rua Belmira Loureiro de Almeida, 1025 – Apto 32, Jd. Piratininga, Sorocaba – SP

TELEFONE: (15) 99708-0001

OBJETIVOS: O projeto de pesquisa tem como objetivo deste trabalho Avaliar pigmentos orgânicos e inorgânicos, em diferentes tipos de pele (oleosa, mista e seca), no período de seis meses, quanto a absorção cutânea e segurança no uso.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: O procedimento para a seleção dos sujeitos será através de uma ficha de anamnese, com os (dados pessoais, hábitos, rotinas e patologias) e avaliação da pele seguindo o protocolo de análise facial, formando três grupos com diferentes tipos de pele (oleosa, mista e seca). Posteriormente, esses grupos serão subdivididos em mais dois grupos de pessoas que usarão o pigmento orgânico ou inorgânico.

PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM MICROPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EM SOBRANCELHAS

Célia Marisa de Oliveira Ramos (15) 99688-7576



Universidade de Sorocaba

Para o critério de inclusão participarão: 36 voluntárias, do sexo feminino, com idade de 30 a 45 anos, com diferente tipo de pele (oleosa, mista e seca).

O critério de exclusão: sujeitos com micropigmentação de sobrancelhas, patologias como diabetes, obesidade, câncer, lúpus, praticantes de natação regular.

Materiais a serem utilizados: equipamento para procedimento aparelho Indutor para micropigmentação Tebori AFE ANVISA: 8081553 REGISTRO ANVISA: 8081553007 Resp. Leticia Karen Antonielli CRF 21175/MG

Materiais para procedimento: pigmento inorgânico Mag Gold, Pigmento orgânico Rb kollors, Laminas descartável, pinça, cera, lupa, paquímetro, Lápis demográfico, Anestésico Enla, Algodão, Pomada cicatrizante, Adstringente, Sabonete antisséptico, Lenços descartáveis, material de segurança (luvas, máscara, jaleco, gorro).

Equipamento para avaliação: Câmera Nikon DSLR D3200 com lente 18-55 mm

Intervenção: A intervenção acontecerá no Visagismo IBCélia, o local a ser micropigmetado será as sobrancelhas, com um equipamento chamado Indutor Manual, exercendo a técnica de fio a fio que tem a durabilidade de 6 meses. A avaliação inicial será realizada com câmera fotográfica com padrão a ser definido. Será observado através das fotos a escala da degradação da cor, e anormalidades na pele, por um período de 6 meses, sendo a avaliação na primeira sessão (P1), a segunda depois de dois meses (P2) e a terceira depois de seis meses(P3).

RISCOS E DESCONFORTOS: Segurança pode ser definida como a ausência de riscos ou perigos, entretanto, segurança absoluta não existe. O reconhecimento do fato de que todos os compostos químicos apresentam toxicidade em algum nível de concentração é importante e, por esta razão, é imprescindível para o nosso estudo a utilização de pigmentos orgânicos e inorgânicos, tal como hipersensibilidade ao produto, que estas preparações podem representar. Caso haja hipersensibilidade ao produto, o tratamento será

PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM MICROPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EM SOBRANCELHAS

Célia Marisa de Oliveira Ramos (15) 99688-7576



Universidade de Sorocaba

interrompido e será feito o uso de creme finalizante da Dermo Mag®, que tem a ação de promover a reparação dos tecidos e auxiliar no processo de cicatrização, age como eficiente hidratante e calmante de pele.

O Sujeito sofrerá desconfortos mínimos nas primeiras 24 horas (sensação de ardência e inchaço, dependendo da sensibilidade da pele), podendo ser controlado com o uso de água boricada gelada, após 24 horas o aparecimento de crostas no local micropigmentado é normal, pois fazem parte do processo regenerativo da pele, e pode ser aliviado com o uso óleo de girassol ou de amêndoas. Esses cuidados fazem parte do pós-procedimento da micropigmentação bem como manter o local limpo, usar filtro solar, não se expor ao sol e freqüentar: praia, piscina, sauna, locais poluídos e contaminados.

Após o processo de cicatrização no período de 40 dias, podem ocorrer algumas falhas no local micropigmentado, sendo preenchido somente na conclusão desse projeto para não comprometer a análise e avaliação dos resultados coletados no período da pesquisa.

BENEFÍCIOS: O voluntário receberá a micropigmentação de sobrancelha por profissional capacitado, o conhecimento sobre o seu protocolo e tipo de pele. Sendo que, esta micropigmentação impacta positivamente no contexto psicossocial, pois estar belo nos remete uma sensação de harmonia, leveza, plenitude e bem estar.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Não se aplica.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: O nome do participante voluntário da pesquisa não será divulgado, sendo somente divulgados os resultados obtidos na pesquisa e as imagens das fotografias mediante permissão documentada.

Célia Marisa de Oliveira Ramos
Assinatura da Pesquisadora Responsável



Universidade de Sorocaba

TERMO DE CONSENTIMENTO DE PARTICIPANTE DA PESQUISA

Eu, _____, RG_ _____, CPF _____, declaro que li as informações contidas no Termo de Consentimento Livre e Esclarecidas do projeto intitulado **“PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM MICROPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EM SOBRANCELHAS”**, que tem como pesquisadora responsável a Profa. Célia Marisa de Oliveira Ramos, fui devidamente informada dos procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa e concordo em participar.

Foi-me garantido:

- Que todas as informações obtidas a meu respeito neste estudo, serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgada a minha identificação ou de outros participantes em nenhum momento;
- Que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade;
- A qualquer momento, se for de meu interesse, posso ter acesso a todas as informações obtidas a meu respeito;
- Quando o estudo for finalizado, serei informado sobre os principais resultados e conclusões obtidos neste estudo.

Declaro ainda que recebi uma via original do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Sorocaba, _____ de - Selecionar - de - Selecionar -.

NOME E ASSINATURA DO PARTICIPANTE OU RESPONSÁVEL:

Nome por extenso:

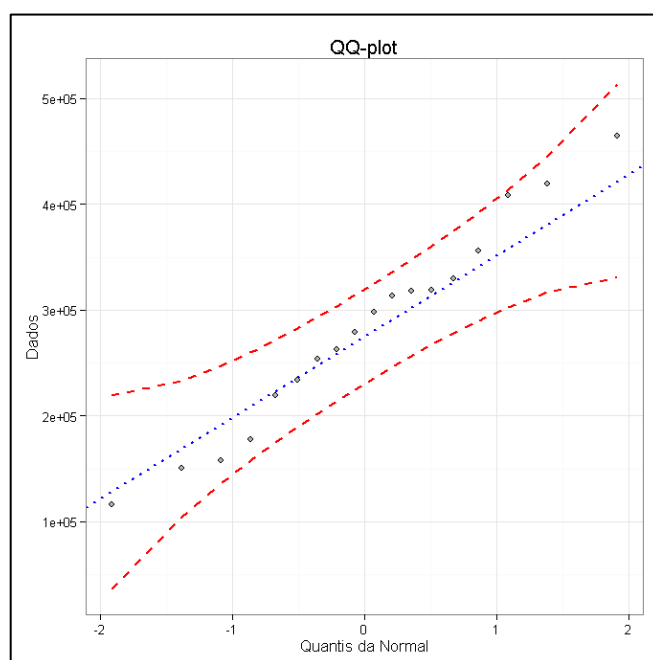
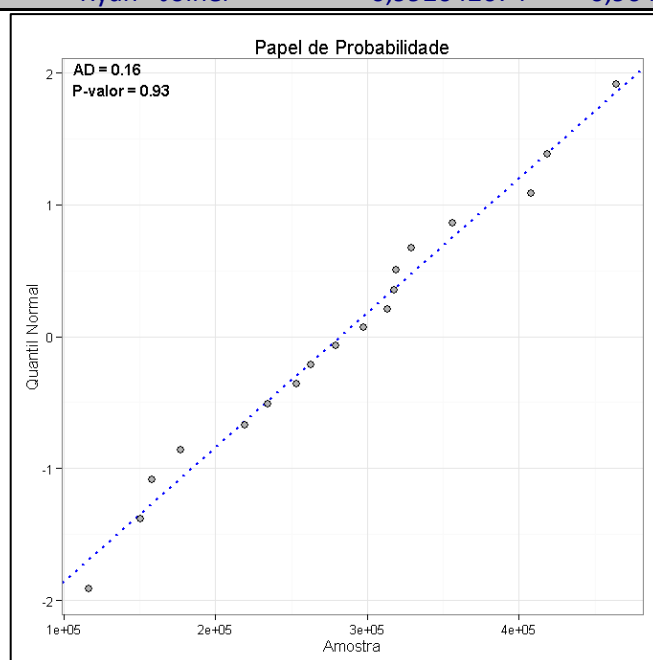
Assinatura:

PIGMENTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS UTILIZADOS EM MICROPIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EM SOBRANCELHAS

Célia Marisa de Oliveira Ramos (15) 99688-7576

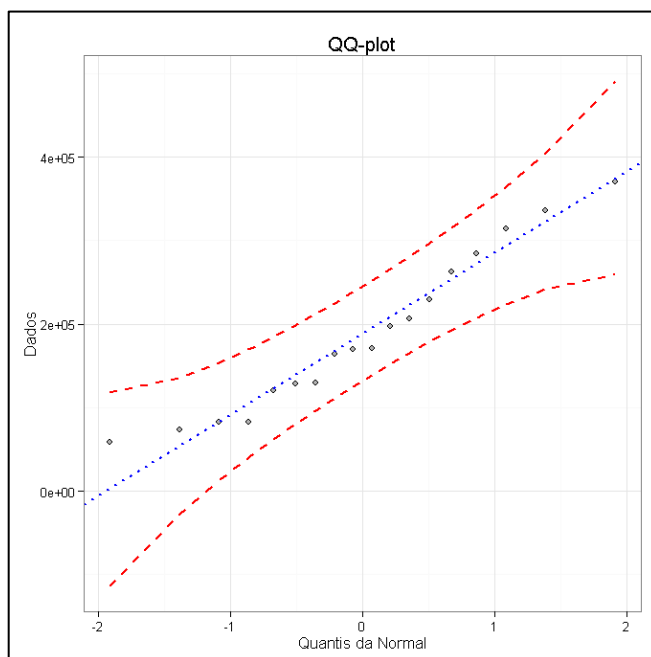
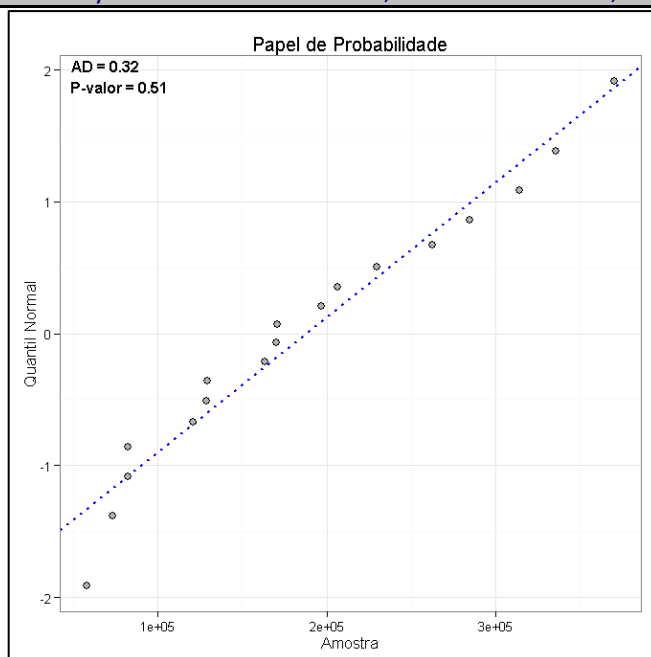
APÊNDICE C - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO ORGÂNICO ETIII

<i>Testes de Normalidade</i>		
<i>Testes</i>	<i>Estatísticas</i>	<i>P-valores</i>
Anderson - Darling	0,163700934	0,9305
Kolmogorov - Smirnov	0,08981786	0,9636
Shapiro - Wilk	0,978412828	0,9322
Ryan - Joiner	0,992642674	0,9645



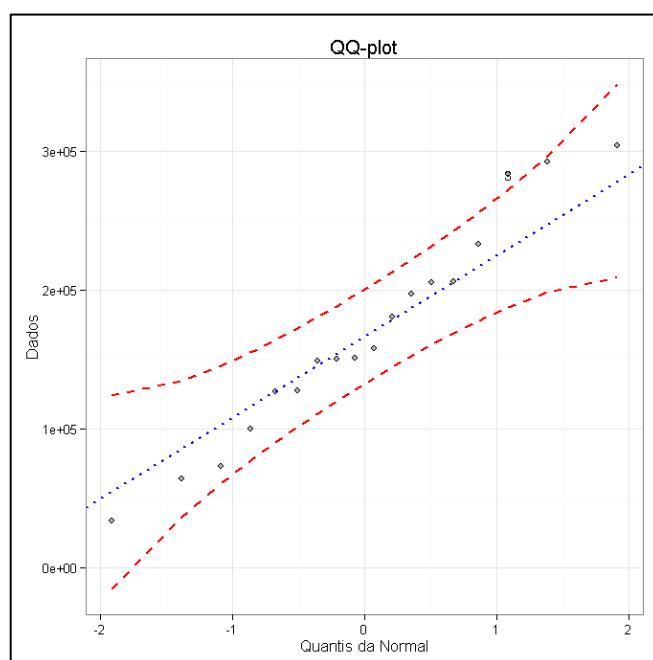
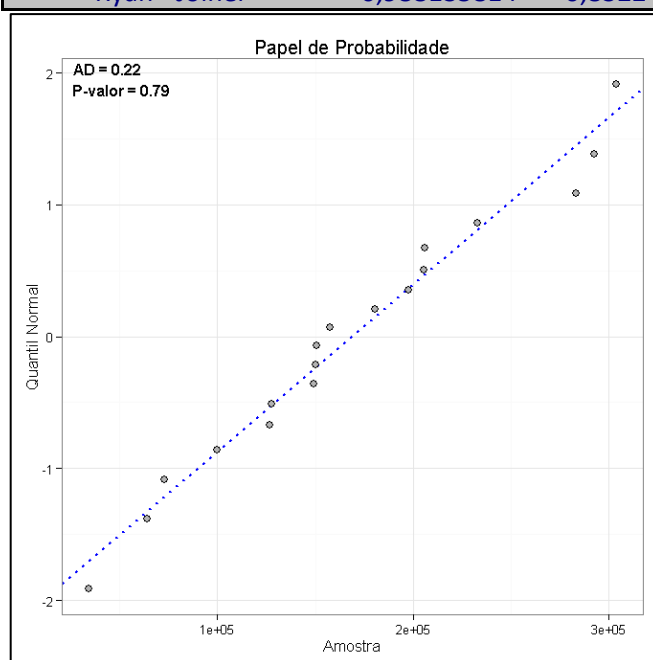
APÊNDICE D - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO ORGÂNICO ETIV

Testes de Normalidade		
Testes	Estatísticas	P-valores
Anderson - Darling	0,31894193	0,508
Kolmogorov - Smirnov	0,127366818	0,6152
Shapiro - Wilk	0,947293979	0,3842
Ryan - Joiner	0,980176104	0,521



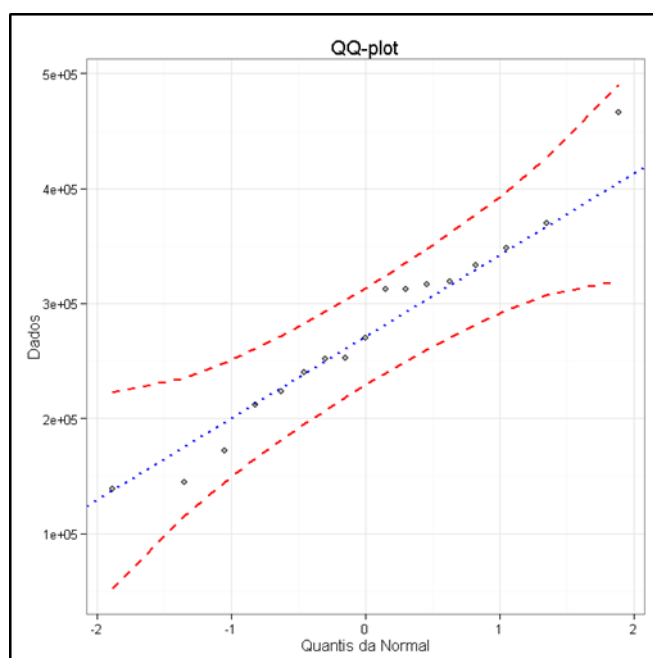
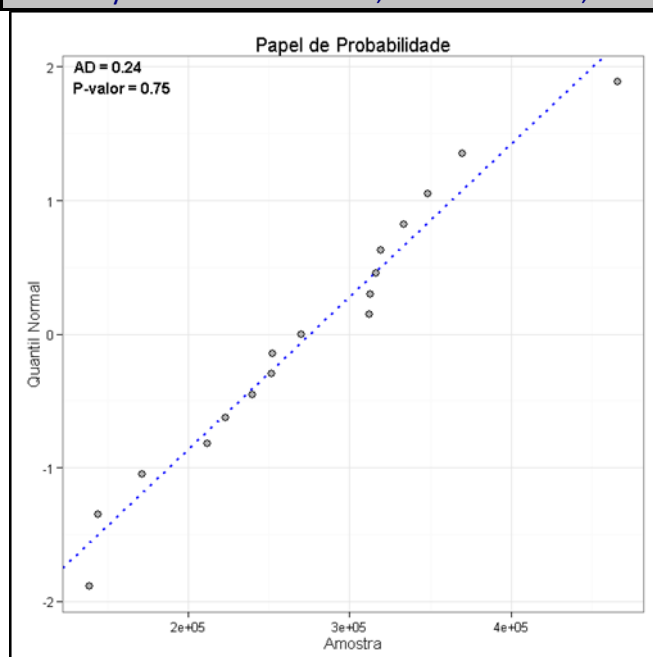
APÊNDICE E - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO ORGÂNICO ETV

<i>Testes de Normalidade</i>		
<i>Testes</i>	<i>Estatísticas</i>	<i>P-valores</i>
Anderson - Darling	0,224826921	0,7899
Kolmogorov - Smirnov	0,112062921	0,7959
Shapiro - Wilk	0,967080249	0,7413
Ryan - Joiner	0,988135814	0,8322



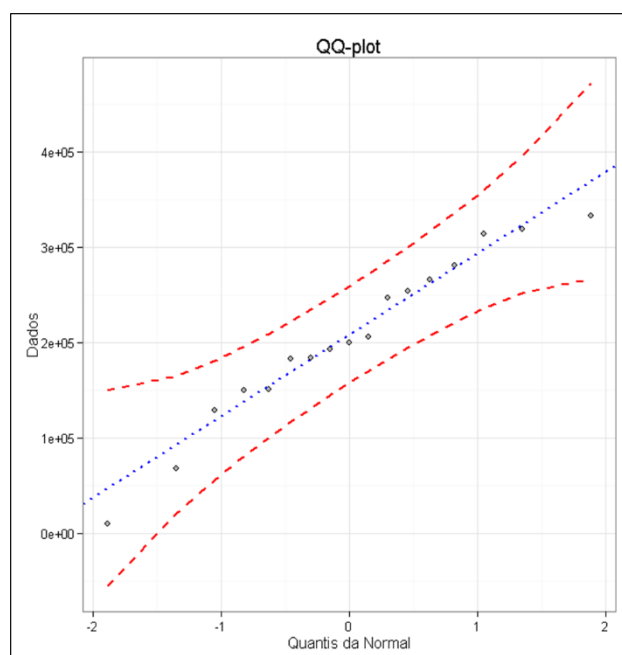
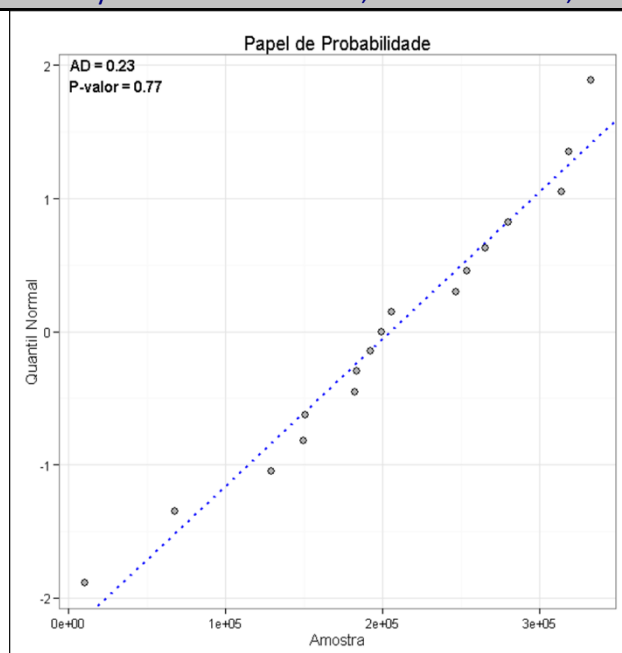
APÊNDICE F - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO INORGÂNICO ETIII

<i>Testes de Normalidade</i>		
<i>Testes</i>	<i>Estatísticas</i>	<i>P-valores</i>
Anderson - Darling	0,236668532	0,7481
Kolmogorov - Smirnov	0,138652	0,5202
Shapiro - Wilk	0,96758961	0,775
Ryan - Joiner	0,983103729	0,6696



APÊNDICE G - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO INORGÂNICO ETIV

<i>Testes de Normalidade</i>		
<i>Testes</i>	<i>Estatísticas</i>	<i>P-valores</i>
Anderson - Darling	0,231567902	0,7654
Kolmogorov - Smirnov	0,105105974	0,8865
Shapiro - Wilk	0,961892345	0,6673
Ryan - Joiner	0,982443922	0,6386



APÊNDICE H - TESTES DE NORMALIDADE DOS DADOS RESULTANTES DA ANÁLISE FOTOGRÁFICA DO PIGMENTO INORGÂNICO ETV

Testes de Normalidade		
Testes	Estatísticas	P-valores
Anderson - Darling	0,357572379	0,409
Kolmogorov - Smirnov	0,170643502	0,2434
Shapiro - Wilk	0,955064985	0,5739
Ryan - Joiner	0,980018535	0,5774

