



ALLERGISA

MÉTODOS ALTERNATIVOS
PARA AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA
DE FOTOPROTETORES



REQUISITOS E MÉTODOS

RDC 30 1º de junho de 2012

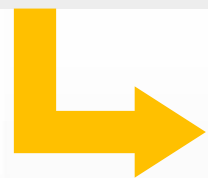
Claim	Protetor Solar	Produto Multifuncional	Métodos
FPS (Estático)	Mínimo 6	Mínimo 2	- FDA 2011 (in vivo) - ISO 24444: 2010 (in vivo)
FP-UVA	Mínimo 1/3 do FPS de rótulo	Mínimo 2	- ISO 24443: 2012 (in vitro) - ISO 24442: 2011 (in vivo)
Comprimento de onda Crítico	Mínimo 370nm	N/A	- Obtenção dos dados: ISO 24443: 2012 (in vitro) - Cálculo: Colipa 2011
Resistência à água	Conforme metodologia	N/A	- FDA 2011 (in vivo) - Colipa guideline 2005 (in vivo)

FPS – FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR



Proteção contra queimadura solar (eritema) - radiação UVB

FP-UVA– FATOR DE PROTEÇÃO UVA



Proteção contra radiação UVA





FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS) ESTÁTICO

ISO 24444 / FDA 2011

$$FPS = \frac{MED_p \text{ (pele protegida)}}{MED_u \text{ (pele desprotegida)}}$$

MED = MINIMAL ERYTHEMAL DOSE (MÍNIMA DOSE ERITEMATOSA)

“The lowest dose of ultraviolet radiation (UVR) that produces the first perceptible unambiguous erythema with defined borders appearing over most of the field of UV exposure, 16h to 24h after UV exposure.”

“Mínima dose de radiação ultravioleta (UVR) capaz de produzir o **primeiro** eritema **perceptível não ambíguo** com **bordas definidas** aparecendo na **maioria do subsítio** exposto à radiação.”

COMO DETERMINAR MEDu e MEDp?

Participantes saudáveis,
sexo masculino ou
feminino, 18 a 70 anos,
Fototipo I a III

Procedimentos do Estudo

- 1) Marcação dos sítios e aplicação dos produtos
- 2) Irradiação (exposição UV)
- 3) Leitura dos eritemas
- 4) Cálculo do FPS

1 MARCAÇÃO DOS SÍTIOS E APLICAÇÃO DOS PRODUTOS

3 áreas de 30cm²

- Produto investigacional (PI)
- Controle
- Pele Desprotegida

Taxa de aplicação: 2mg/cm²



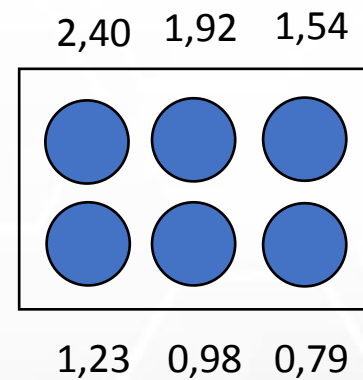
2 IRRADIAÇÃO (EXPOSIÇÃO UV)

Emissão de Radiação UVB+A
6 guias de luz independentes

- * Intensidade com progressão de:
25% - MEDu e Produtos FPS $\leq$ 25
12% - Produtos FPS > 25

* Diferente para FDA

Unidade: MED/min



3 LEITURA DOS ERITEMAS

UVB
UVA (próximo)



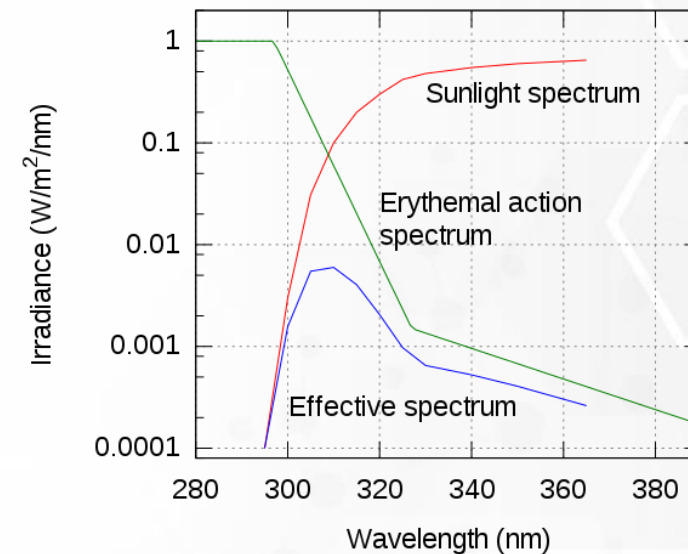
Inflamação
(vermelhidão)



MED

- Primeiro eritema perceptível
- Não ambíguo
- Bordas definidas *
- Maioria do subsítio

* Está sendo alterado para a próxima revisão da ISO 24444.

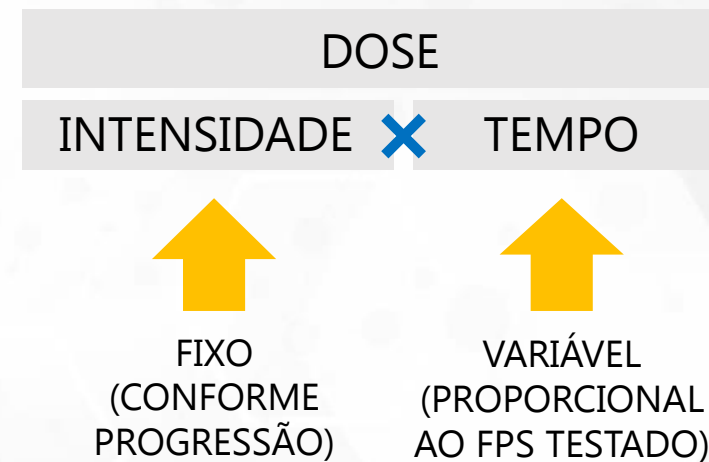


**16 A 24H APÓS A
EXPOSIÇÃO UV**

4 CÁLCULO DO FPS

$$FPS = \frac{MEDp \text{ (pele protegida)}}{MEDu \text{ (pele desprotegida)}}$$

Produto Investigacional	Controle	Pele Desprotegida
		
MED na saída 3 (MEDp)	MED na saída 3 (MEDp)	MED na saída 3 (MEDu)



DIFICULDADES

Alta variabilidade

- Resposta biológica da pele dos participantes
- Aplicação do produto
- Leitura dos Eritemas
- Equipamentos

Teste invasivo – envolve exposição de participantes à radiação ultravioleta, é necessário induzir a formação de eritema para se obter uma medida válida.

DESAFIOS

Reduzir a Variabilidade do teste de FPS in vivo

ISO vem trabalhando para diminuir a variabilidade, principalmente com relação à interpretação e identificação da MED.

Métodos alternativos

Ideal: melhor precisão e exatidão (concordância com o método atual ISO 24444)

MÉTODOS ALTERNATIVOS



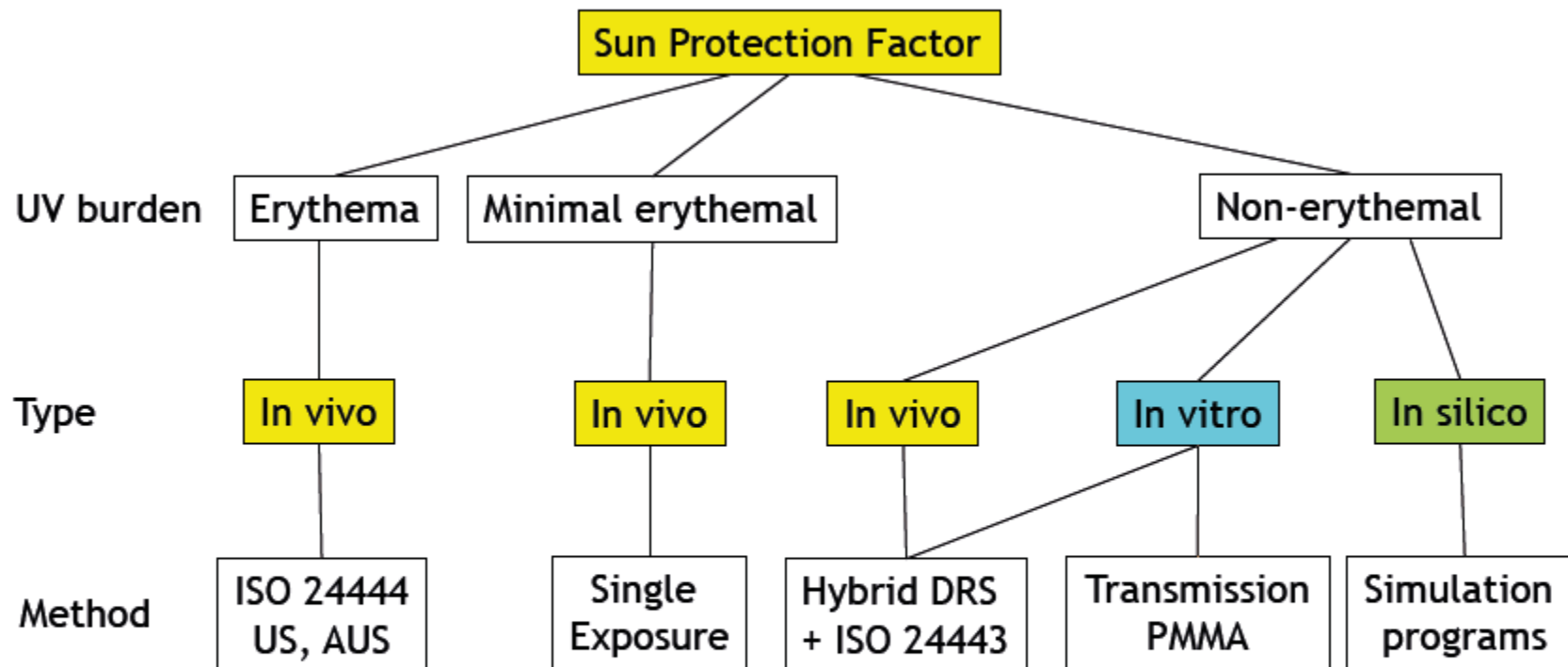


Fig. 3 SPF Gold standard and alternatives. Classification of assessment method according to type.

SPF Assessment Revisited – Status and Outlook

U. Osterwalder, R. Schütz, J. Vollhardt

A person wearing a light green button-down shirt is holding a small, round, white jar with a gold-colored lid. The jar is open, showing a white cream inside. Another person's hands are visible in the background, one hand resting on the other. The background is a light gray with a pattern of white hexagons.

SINGLE EXPOSURE (in vivo)

AVALIA A EFICÁCIA DO PROTETOR ATRAVÉS DE MÉTODO PASS/FAIL

Exposição UV de uma única área no participantes

Houve formação de Eritema?

SIM – Fail
Protetor não Eficaz



NÃO – Pass
Protetor Eficaz



Não requer o aparecimento de eritema – reduz o fardo para os participantes

Hybrid Diffuse Reflectance Spectroscopy Method (H-DRS) (in vivo / in vitro)

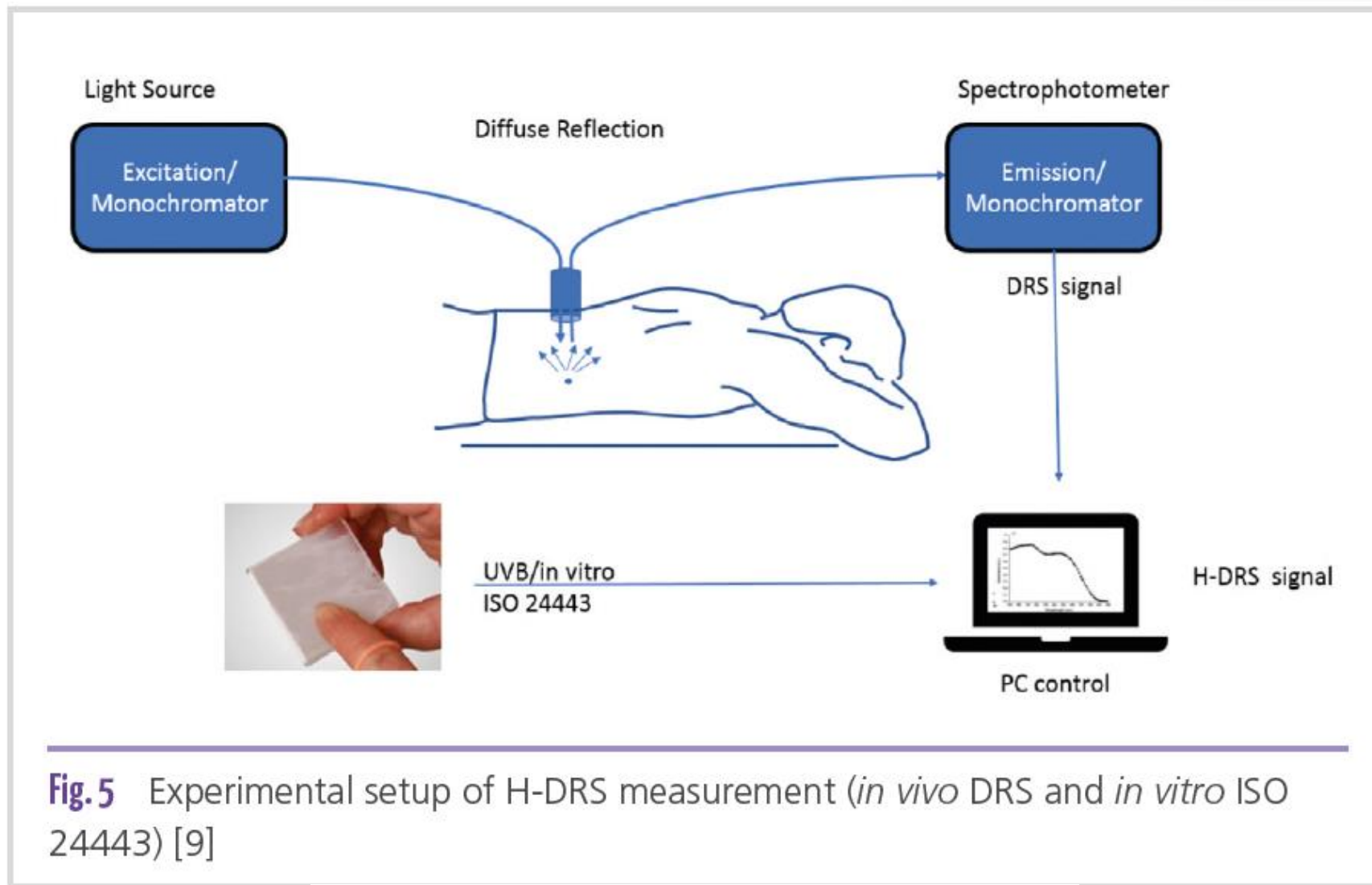
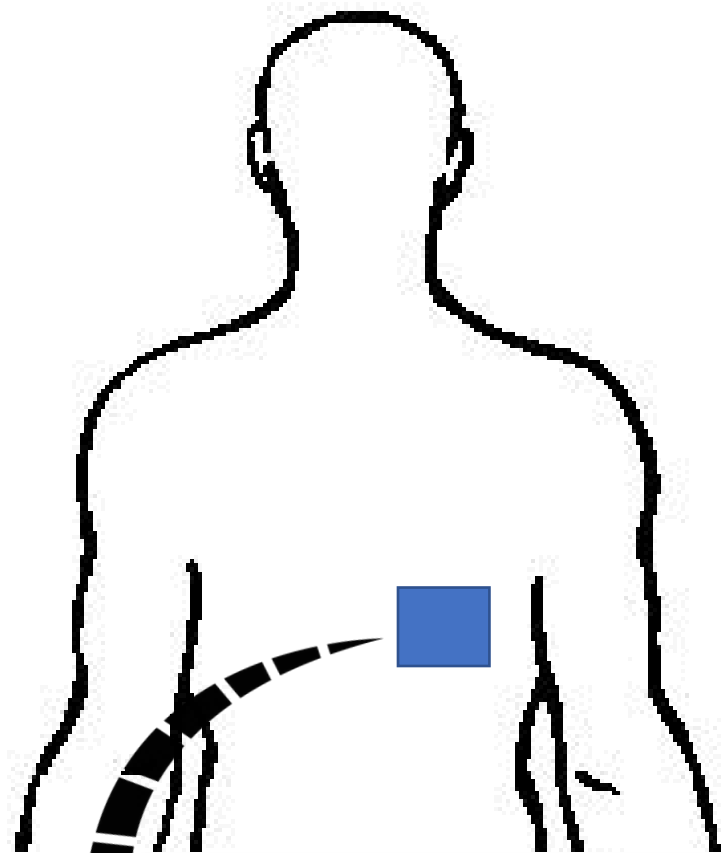


Fig. 5 Experimental setup of H-DRS measurement (*in vivo* DRS and *in vitro* ISO 24443) [9]

SPF Assessment Revisited – Status and Outlook

U. Osterwalder, R. Schütz, J. Vollhardt

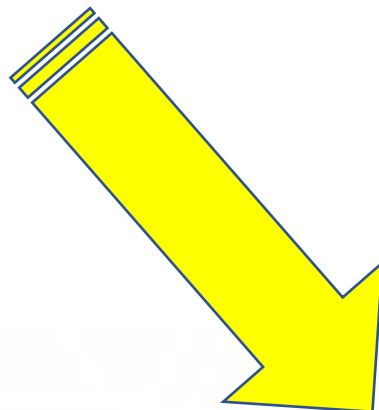


**Reflectância da
pele desprotegida**

**UVB - Sinal muito fraco pois a pele
absorve a maior parte - LIMITAÇÃO**

1

MEDIÇÃO DA PELE DESPROTEGIDA

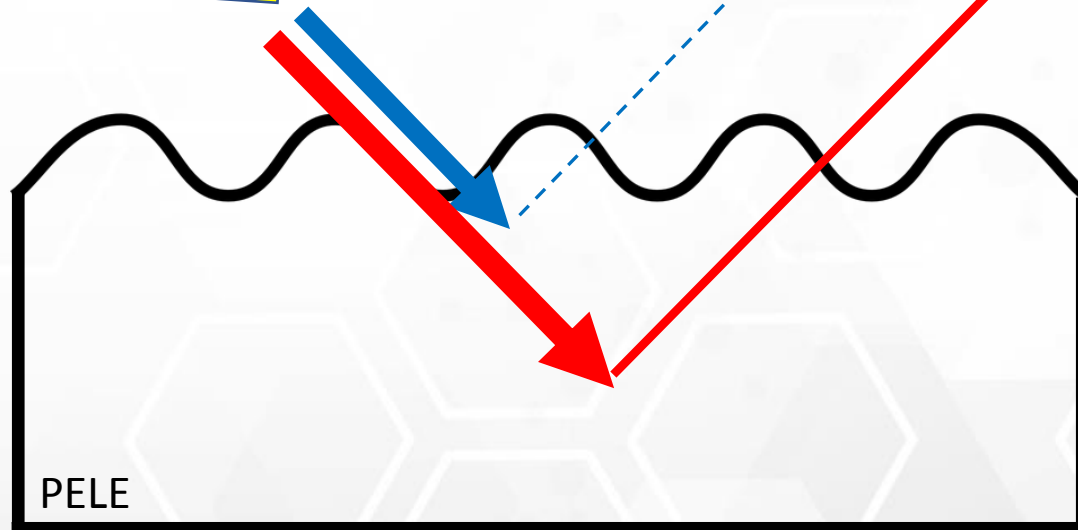


SENSOR

$I_0(\lambda)$

UVB

UVA



PELE

Esquema simplificado, na verdade ocorre reflexão difusa

2 APLICAÇÃO DO PRODUTO E MEDIÇÃO DA PELE PROTEGIDA

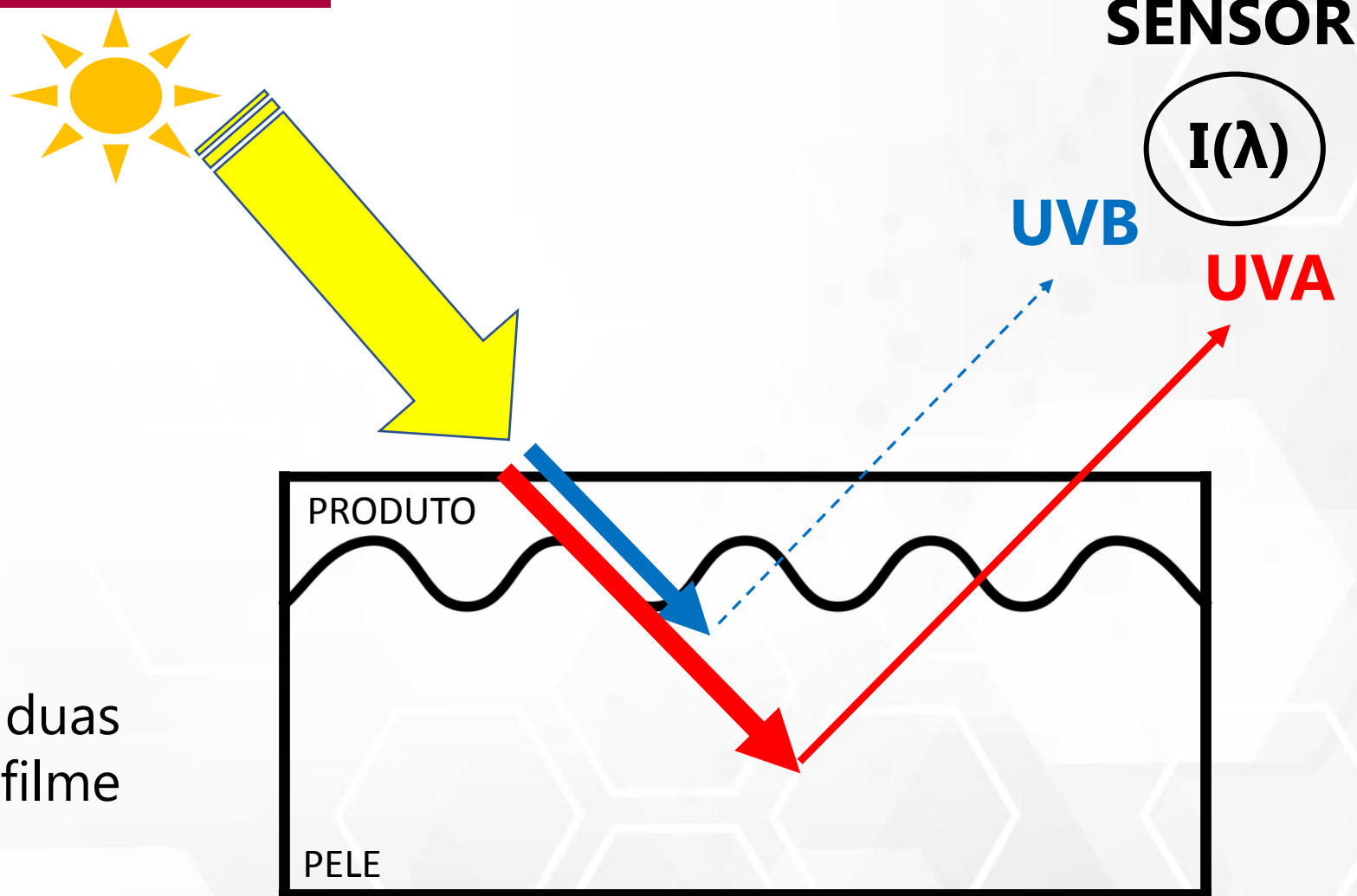
APLICAÇÃO: 2mg/cm²

Cálculo da transmitância

$$T(\lambda) = \sqrt{\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)}}$$



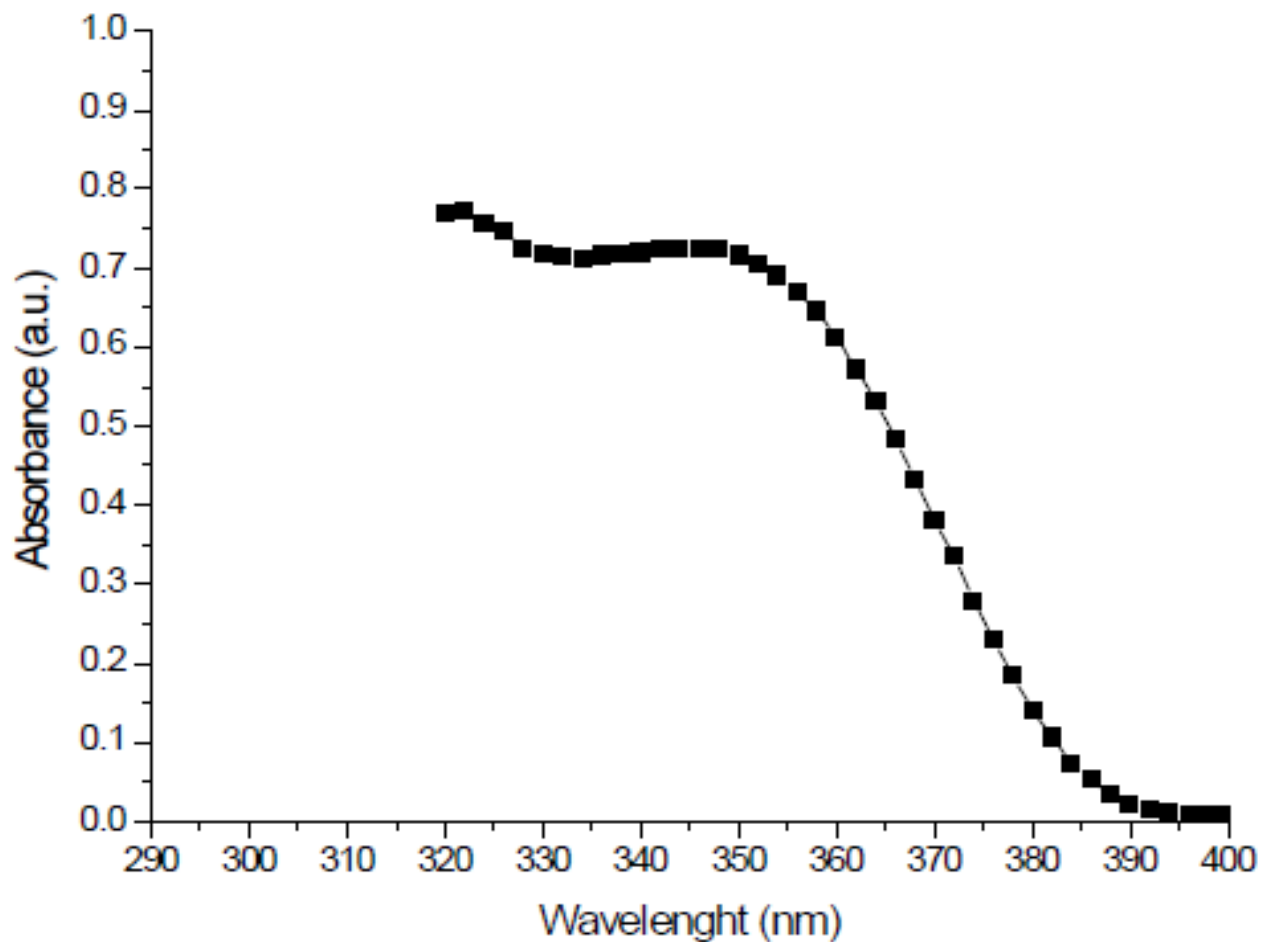
Luz passa duas vezes pelo filme de produto



Esquema simplificado, na verdade ocorre reflexão difusa

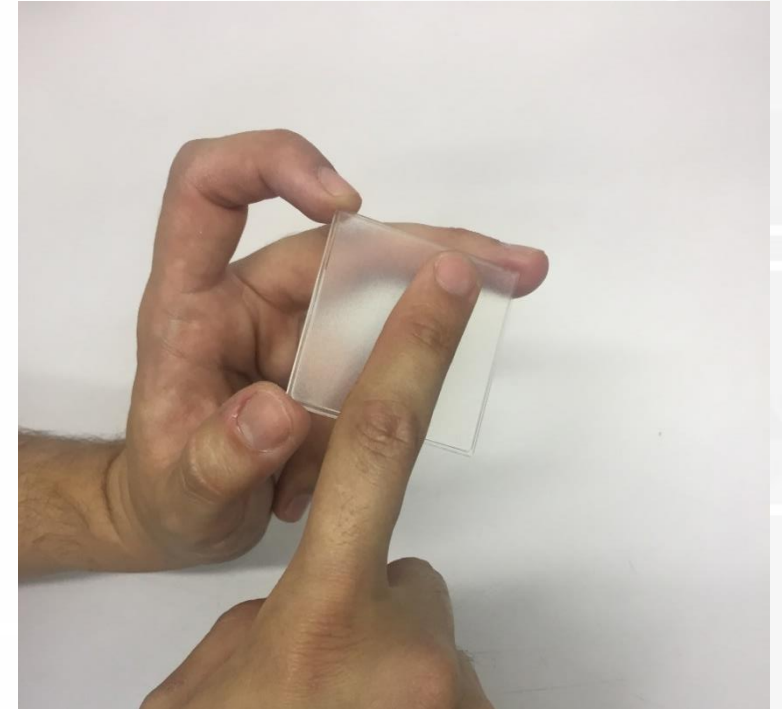
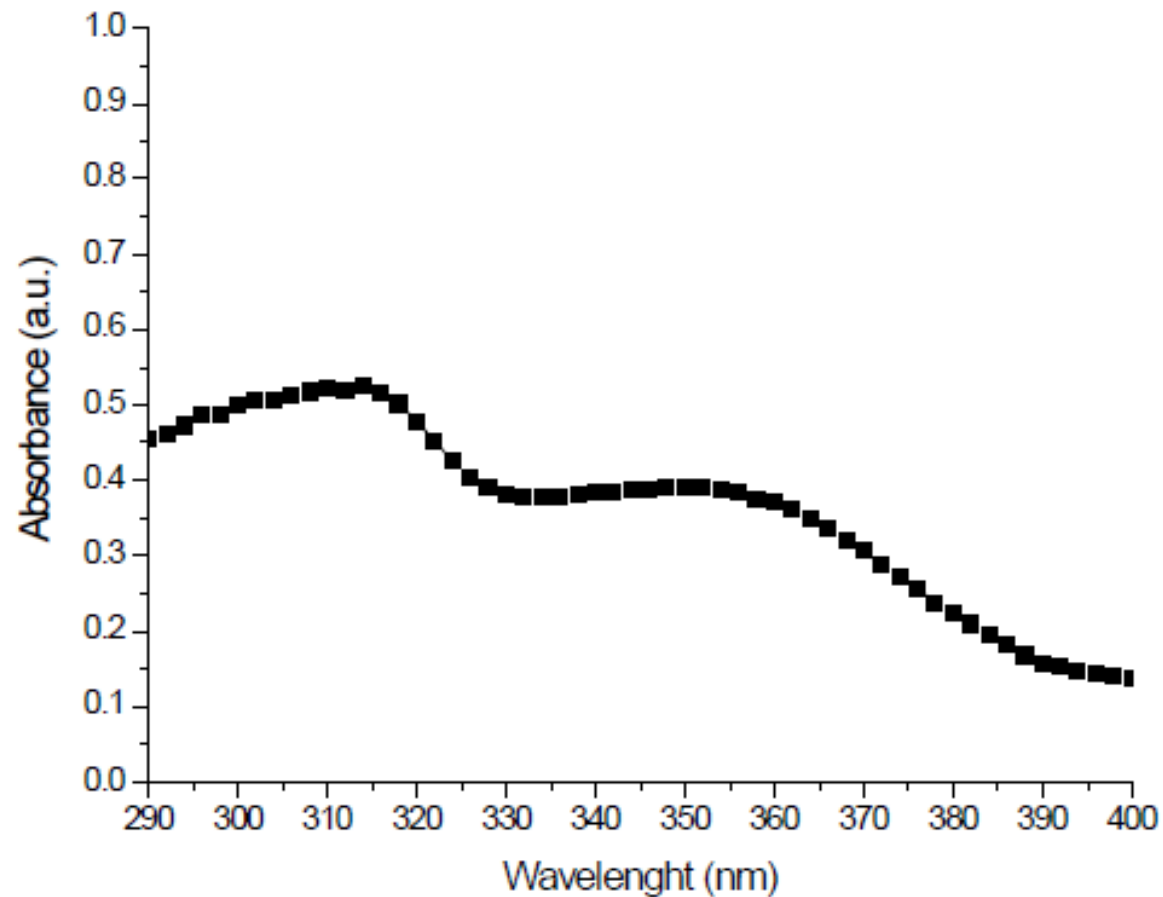
3

GRÁFICO DE TRANSMITÂNCIA UVA



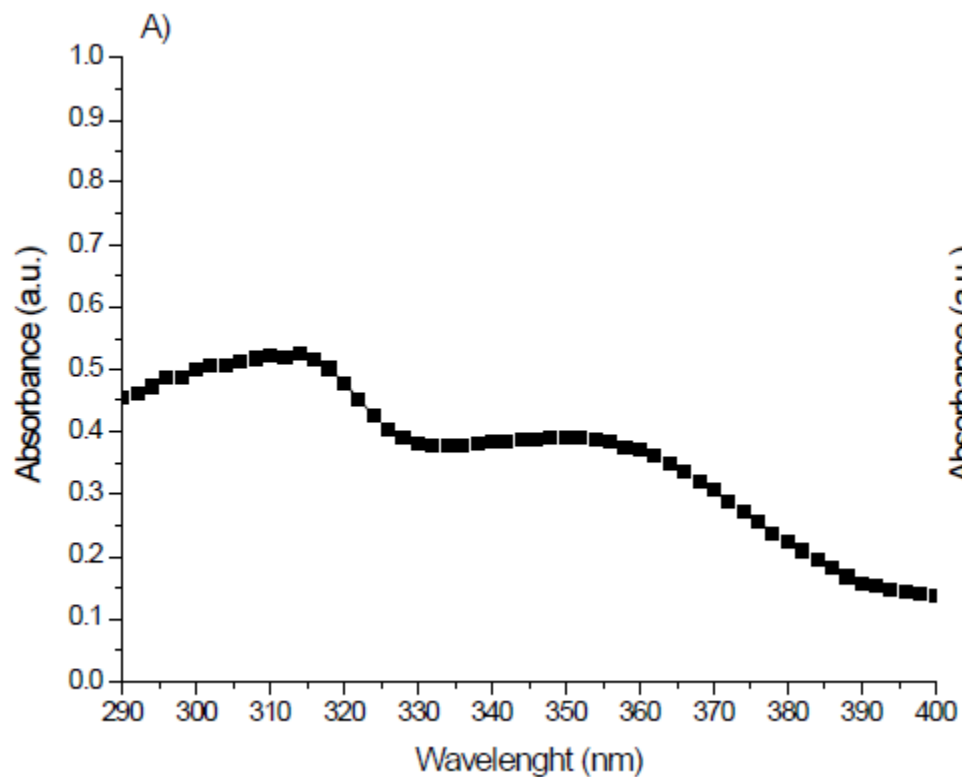
UVB
NÃO É POSSÍVEL MEDIR A
REFLECTÂNCIA
SINAL MUITO FRACO

4 MEDIÇÃO DA ABSORBÂNCIA CONFORME ISO 24443

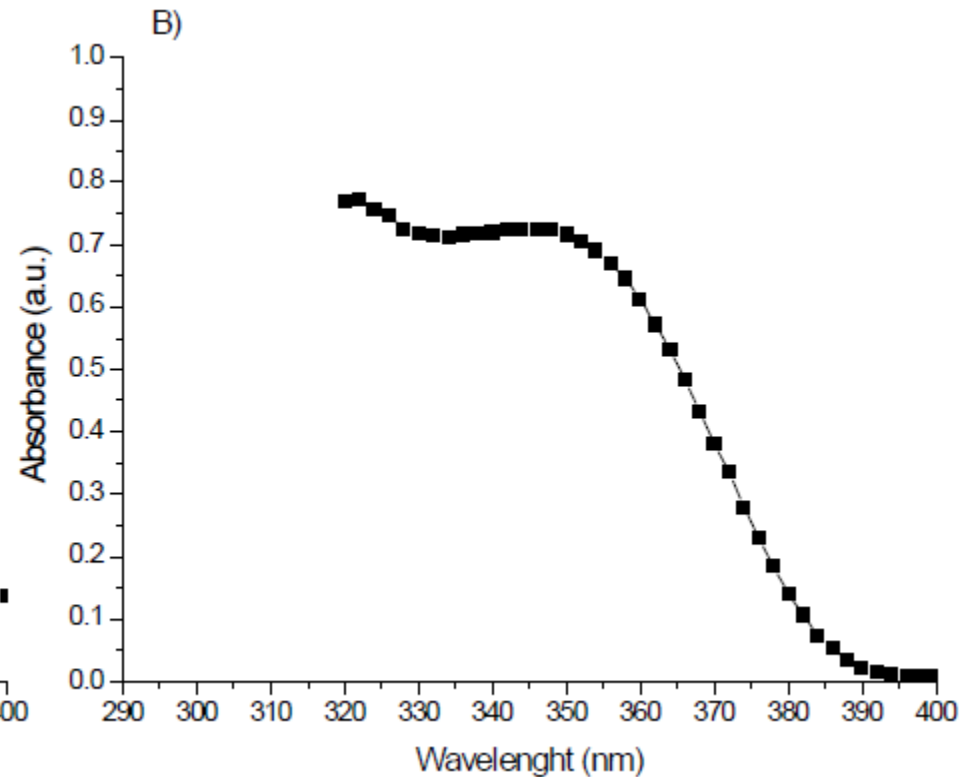


5

COMPARAÇÃO DOS GRÁFICOS



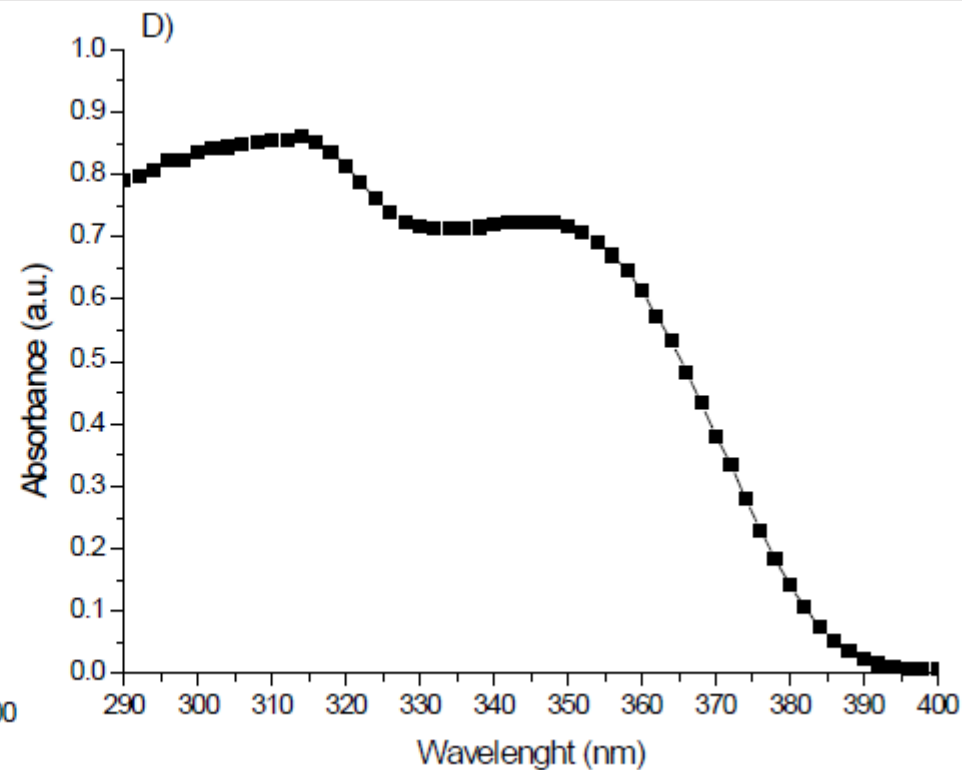
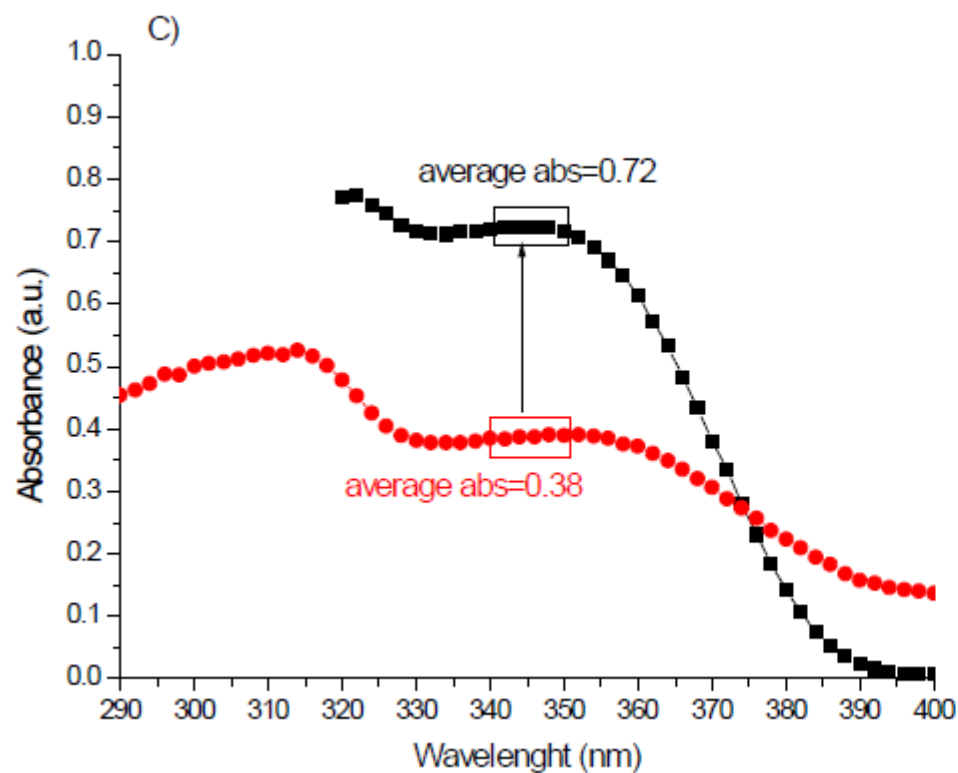
IN VITRO



DRS

5

CORREÇÃO E EXTRAPOLAÇÃO-UVB



ASSUME-SE QUE A CURVA NA REGIÃO DO UVA DRS É A CORRETA, ENTÃO CORRIGE-SE A CURVA OBTIDA CONFORME ISO 24443 E EXTRAPOLA-SE PARA A REGIÃO DO UVB.

6

CÁLCULO DO FPS

$$\text{SPF}_{\text{calculated}} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) I(\lambda) d\lambda}{\int_{\lambda=290} E(\lambda) I(\lambda) 10^{-A(\lambda)} d\lambda}.$$

$E(\lambda)$ = Erythral action spectrum, $I(\lambda)$ = spectral irradiance, $A(\lambda)$ = absorbance.

CORRELAÇÃO H-DRS X ISO24444

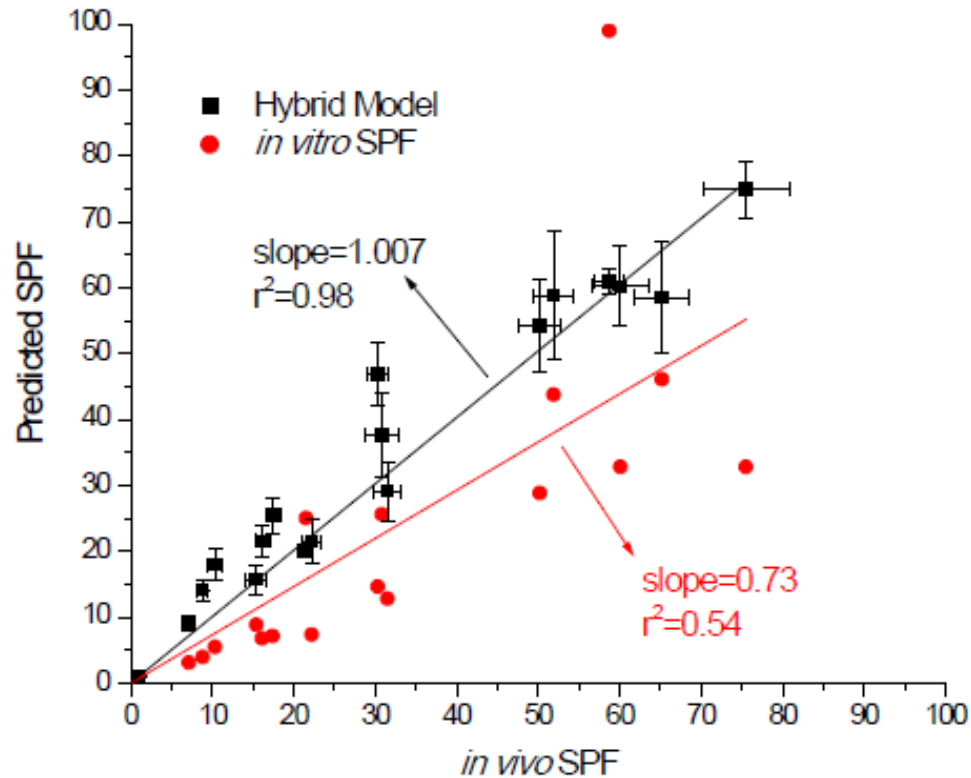


Fig. 7. Shows the *in vivo* SPF correlation with the hybrid model and the *in vitro* SPF calculation using the full *in vitro* absorbance spectrum obtained in PMMA plates.

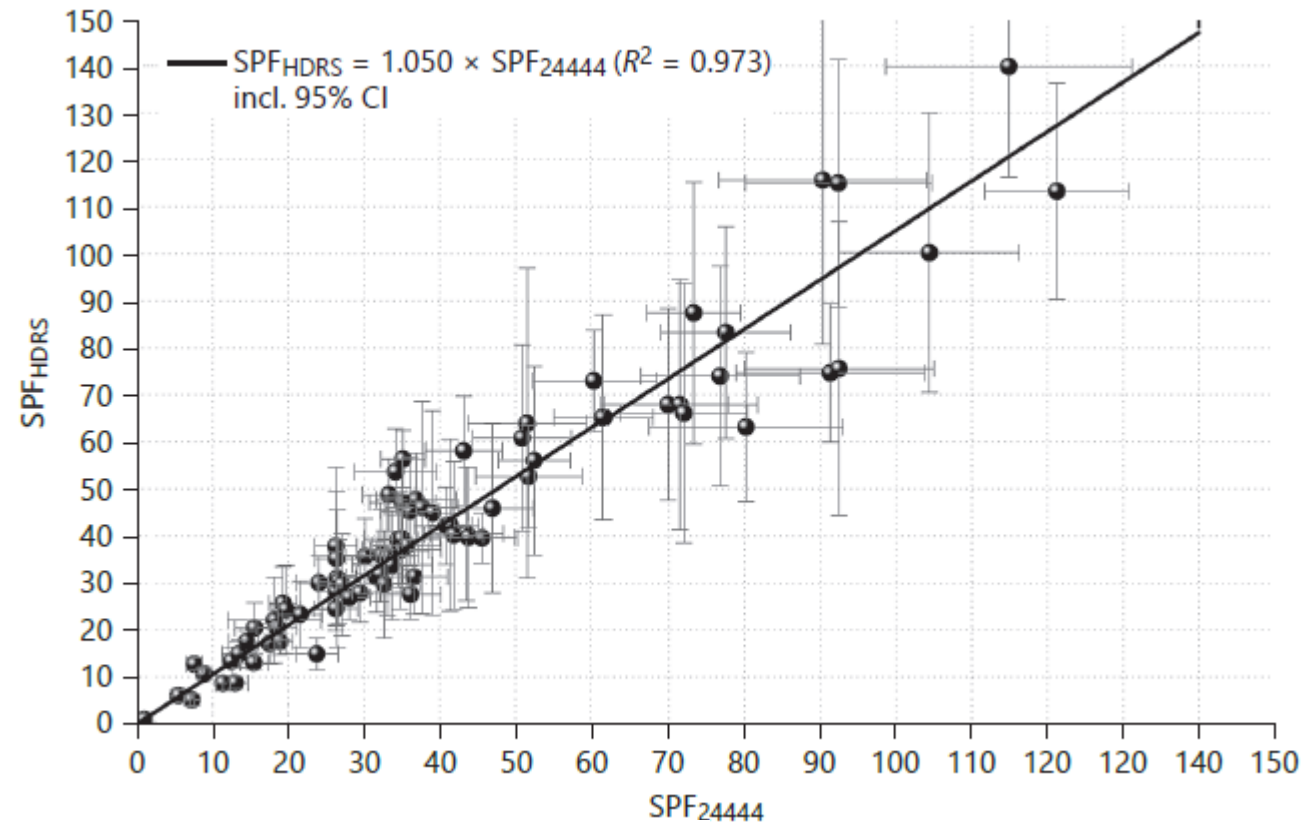


Fig. 5. SPF_{HDRS} as a function of SPF_{24444} *in vivo* taking into account photodegradation by using the corresponding RPD including a linear regression analysis as well as the 95% CI for both measurements.

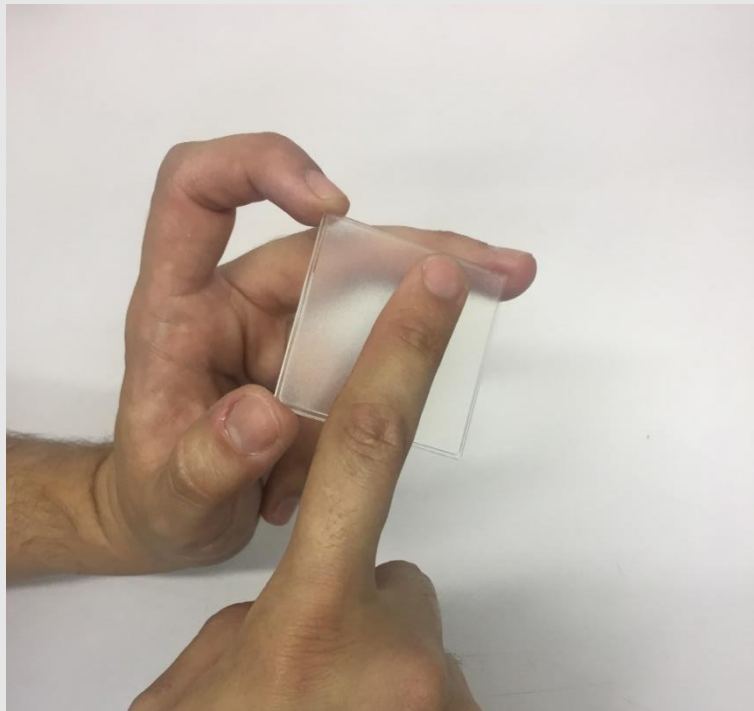
Principal Vantagem

Dose de radiação UV durante a medição de reflectância <1%

TRANSMISSION SPF (in vitro)

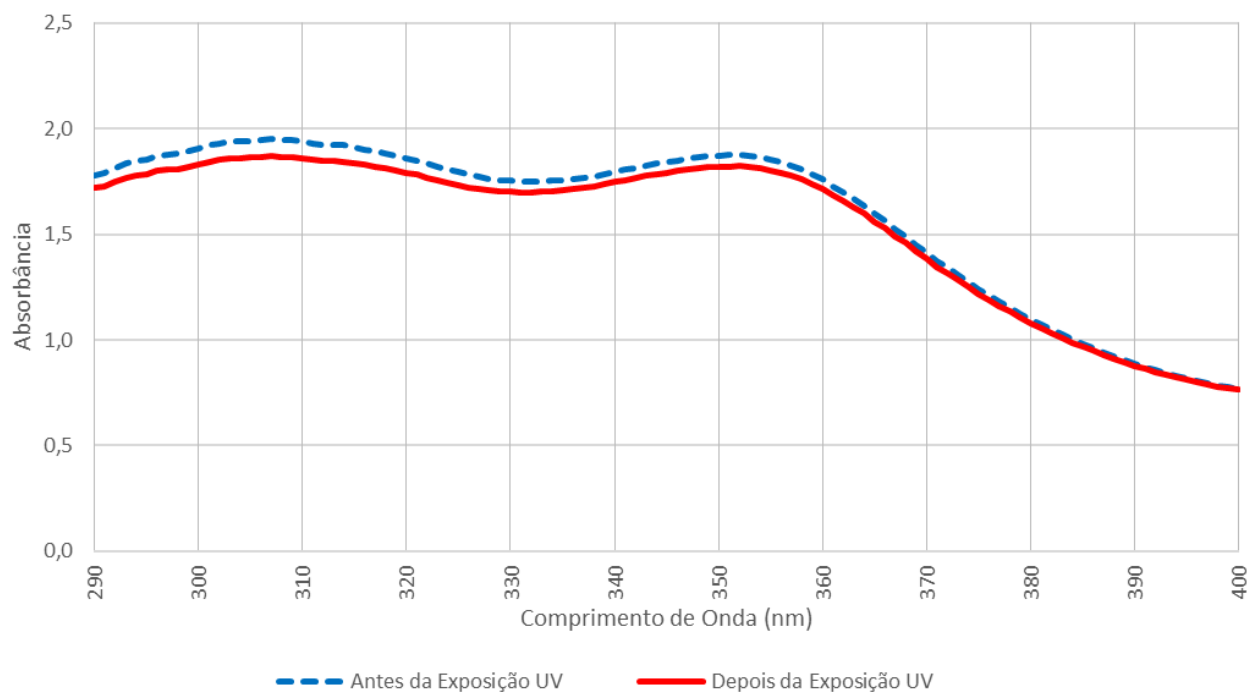
SPF (in vitro)

Aplicação do produto em um substrato (VitroSkin, Placas de PMMA)
Leitura da absorbância em um espectrofotômetro



ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA CALCULADO A PARTIR DA TRANSMITÂNCIA

$$A = -\log T$$



$$SPF_{in\ vitro} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)} \times d\lambda}$$

DIFICULDADES

Comportamento do produto na placa é diferente da pele!

Variabilidade

- Espalhamento
- Equipamentos
- Tipo de substrato
- Tipo de Matriz

Baixa correlação com o FPS in vivo

Validation of an *in vitro* sun protection factor (SPF) method in blinded ring-testing

M. Pissavini*, C. Tricaud[†], G. Wiener[‡], A. Lauer[§], M. Contier[¶], L. Kolbe^{**}, C. Trullás Cabanas^{††}, F. Boyer^{‡‡}, V. Nollent^{§§}, E. Meredith^{¶¶}, E. Dietrich^{***} and P. J. Matts^{†††}

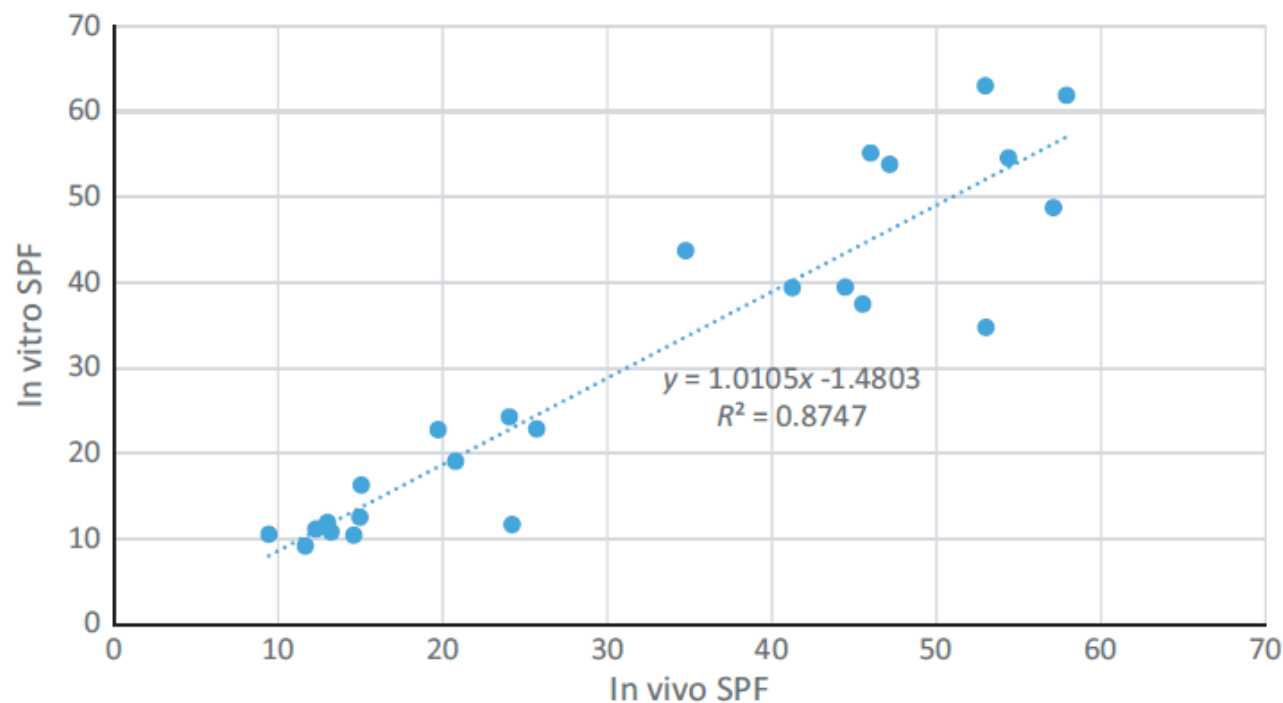


Figure 1 Correlation between interlaboratory mean *in vitro* and *in vivo* SPF values.

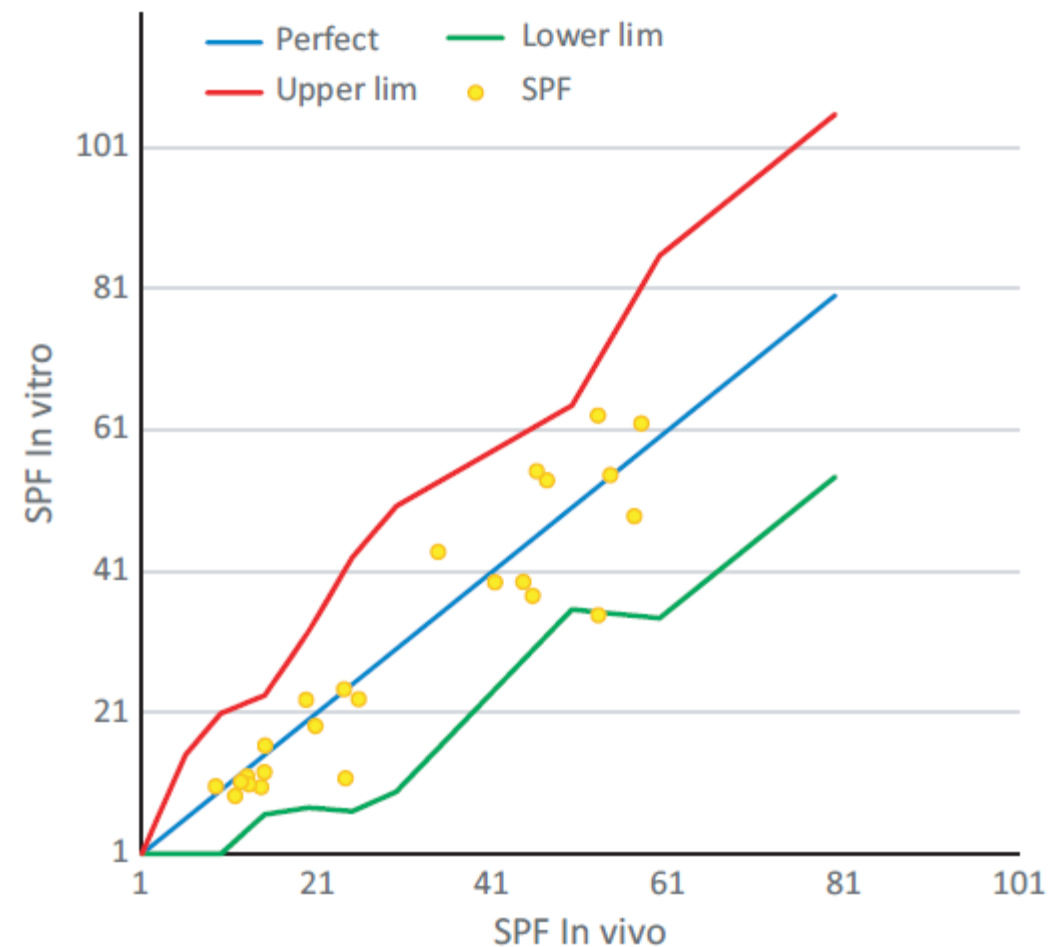


Figure 3 Results from blinded ring study, showing data points laid over the new ISO acceptance criteria 'funnel' in Fig. 2.

CALCULATED SPF (in silico)



CÁLCULO DO FPS BASEADO NO ESPECTRO DE ABSORÇÃO DOS FILTROS DA FORMULAÇÃO

$$SPF_{in\ vitro} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)} \times d\lambda}$$

Leva em consideração:

- Concentração dos filtros UV utilizados
- Fotodegradação
- Modifica a absorção com uma função para correlacionar com o valor in vivo

Mesmo cálculo proposto pela ISO 24443, com uma diferença:

Absorbância
calculada pelo
software

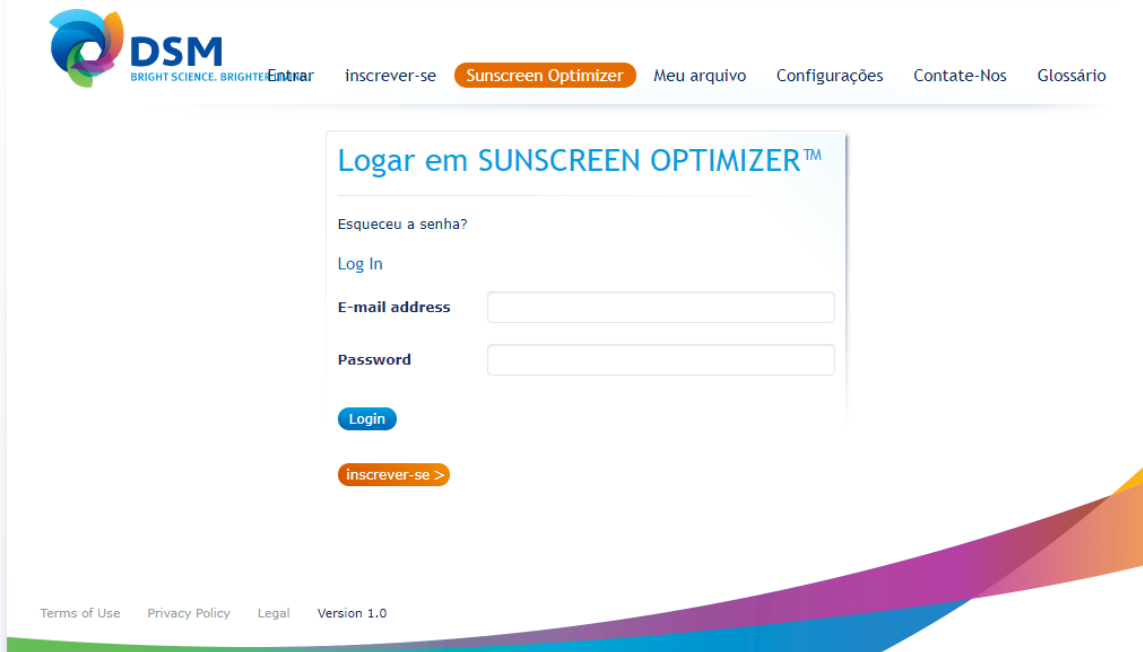


Absorbância
medida
(ISO)



FERRAMENTAS DISPONÍVEIS

DSM SUNSCREEN OPTIMIZER



The screenshot shows the DSM Sunscreen Optimizer login interface. At the top left is the DSM logo with the tagline 'BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER ENTIRE.' and a navigation menu with links: 'inscrever-se', 'Sunscreen Optimizer' (highlighted), 'Meu arquivo', 'Configurações', 'Contate-Nos', and 'Glossário'. The main content area is titled 'Logar em SUNSCREEN OPTIMIZER™'. It includes a link 'Esqueceu a senha?', a 'Log In' link, and a login form with fields for 'E-mail address' and 'Password'. Below the form is a blue 'Login' button and an orange 'inscrever-se >' button. The footer contains links for 'Terms of Use', 'Privacy Policy', 'Legal', and 'Version 1.0'.

DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER ENTIRE.

inscrever-se Sunscreen Optimizer Meu arquivo Configurações Contate-Nos Glossário

Logar em SUNSCREEN OPTIMIZER™

Esqueceu a senha?

Log In

E-mail address

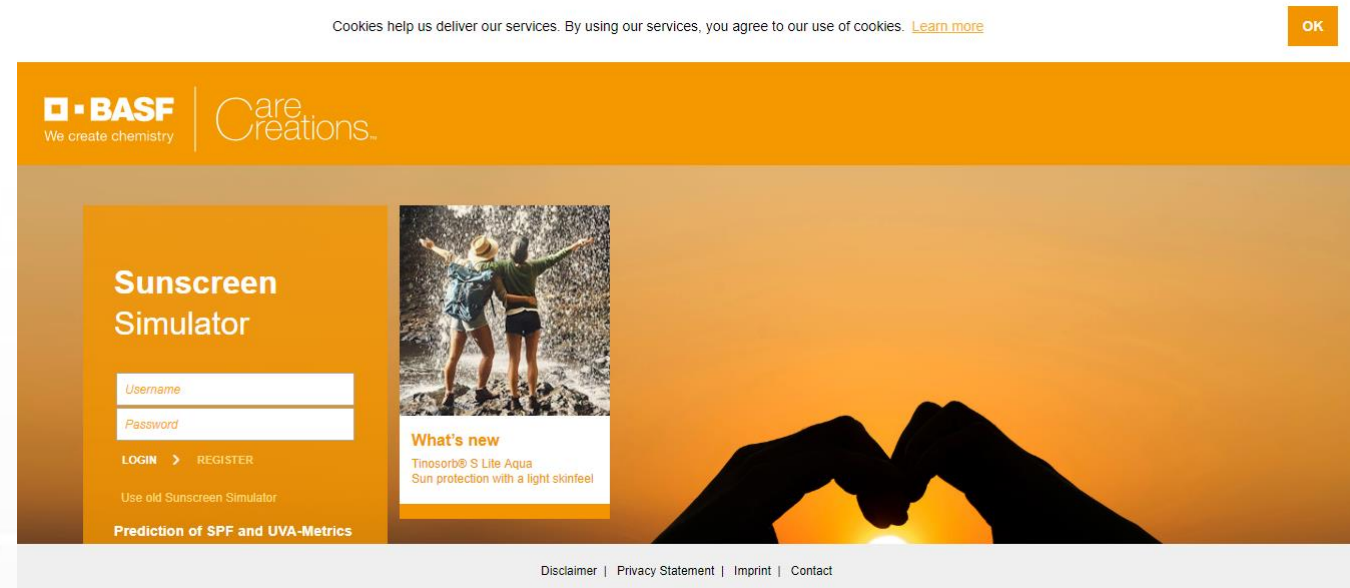
Password

Login

inscrever-se >

Terms of Use Privacy Policy Legal Version 1.0

BASF SUNSCREEN SIMULATOR



The screenshot shows the BASF Sunscreen Simulator homepage. At the top, a cookie notice states: 'Cookies help us deliver our services. By using our services, you agree to our use of cookies. [Learn more](#)'. The BASF logo and 'Care Creations' tagline are on the left. The main heading is 'Sunscreen Simulator'. Below it are input fields for 'Username' and 'Password', followed by 'LOGIN' and 'REGISTER' buttons. A link 'Use old Sunscreen Simulator' is also present. A featured product section titled 'What's new' highlights 'Tinosorb® S Lite Aqua' with the description 'Sun protection with a light skinfeel'. The background features a silhouette of two people on a beach. The footer contains links for 'Disclaimer', 'Privacy Statement', 'Imprint', and 'Contact'.

Cookies help us deliver our services. By using our services, you agree to our use of cookies. [Learn more](#)

OK

BASF
We create chemistry

Care Creations

Sunscreen Simulator

Username

Password

LOGIN REGISTER

Use old Sunscreen Simulator

Prediction of SPF and UVA-Metrics

What's new
Tinosorb® S Lite Aqua
Sun protection with a light skinfeel

Disclaimer | Privacy Statement | Imprint | Contact



Sunscreen

Analysis
(HPLC) [23]

UV Filter
Composition

Fitting algorithms,
calibrated in vivo

SPF, other
performance
metrics

Add additional filters

☐	Ethylhexyl dimethyl PABA	8.0%	UVB	
☐	Ethylhexyl Methoxycinnamate	10.0%	UVB	
☒	Ethylhexyl Salicylate	5.0%	UVB	
☐	Ethylhexyl Triazone	5.0%	UVB	
☒	Homomenthyl Salicylate	10.0%	UVB	
☐	Isoamyl p-Methoxycinnamate	10.0%	UVB	
☒	Octocrylene	10.0%	UVB	
☐	Phenylbenzimidazol Sulfonic Acid	8.0%	UVB	
☐	Polysilicone-15	10.0%	UVB	
☐	4-Methylbenzylidene Camphor	4.0%	UVB	
☐	Benzophenone-3	6.0%	UVB	
☐	Benzophenone-4	5.0%	UVB	
☒	Titanium Dioxide (nano)	25.0%	UVB	
☐	Tris Biphenyl Triazine, active	10.0%	UVB	
☒	Butyl Methoxydibenzoylmethane	5.0%	UVA	
☐	Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate	10.0%	UVA	
☐	Disodium Phenyl Dibenzimidazole Tetrasulfonate	10.0%	UVA	
☐	Terephthalylidene Dicamphor Sulfonic Acid	10.0%	UVA	
☒	Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine	10.0%	UVA/B	

UV filter selection in simulation tool [22]

Fig. 6 Principle of *in silico* method based on UV Filter concentration [20-23]

SPF Assessment Revisited – Status and Outlook

U. Osterwalder, R. Schütz, J. Vollhardt

VALIDAÇÃO E AVALIAÇÃO DO **POTENCIAL DOS MÉTODOS**



Antes de ser aceito, o método deve ser validado

É necessário avaliar:

- Erros sistemáticos
- Variação dependente de do tipo de amostra
- Reprodutibilidade
- Repetibilidade
- Exatidão (resultados condizentes com o método atual – ISO 24443)



Fig.1 “It is better to be roughly right than precisely wrong.” – John Maynard Keynes. One should not be misled by high precision. The scatter of the “roughly right” case can always be reduced by more data that will make it possible to narrow the distance from the true value – at some extra cost, of course.

SPF Assessment Revisited – Status and Outlook

U. Osterwalder, R. Schütz, J. Vollhardt

Method Type	Method Name (number)	Method Description	Characteristics, Properties, Evolution, Fate	ISO Status
In vivo	SPF (ISO24444)	ISO 24444	Biological endpoint, complex method, relevant for skin cancer	Gold standard
	SPF Single exposure	Confirms protection	Improvement on ISO 24444, no acceptance in industry (too late)	Not implemented
	SPF H-DRS	Diffuse Reflectance Spectroscopy + ISO 24443	Combines best of <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> type methods. Potential to replace all current methods	Under review
In vitro	SPF Transmission	PMMA plates transmission	Forty years of development, not universal (skin ≠ plastic)	Under review
In silico	SPF Calculation	UV filter spectra + irregular skin film + EN 17156 (HPLC)	Steady improvement over past 20 years, very popular for sunscreen development, market monitoring	Not considered

Tab. 1 Status of Gold Standard ISO 24444 and potential alternatives

SPF Assessment Revisited – Status and Outlook

U. Osterwalder, R. Schütz, J. Vollhardt

OBRIGADO!

Lucas Guerra

Diretor de Pesquisa
Allergisa

lucas@grupoinvestiga.com

REFERÊNCIAS

- U. Osterwalder, R. Schütz, J. Vollhardt. SPF Assessment Revisited – Status and Outlook. SOFW Journal 04/18 | Volume 144 | Thannhausen, Germany, April 13, 2018
- Ruvolo Junior E, Kollias N, Cole C.. New noninvasive approach assessing in vivo sun protection factor (SPF) using diffuse reflectance spectroscopy (DRS) and in vitro transmission. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2014 Aug;30(4):202-11.
- Rohr M. · Ernst N. · Schrader A. Hybrid Diffuse Reflectance Spectroscopy: Non-Erythematous in vivo Testing of Sun Protection Factor. Skin Pharmacol Physiol. 2018;31(4):220-228.
- Pissavini M1, Tricaud C2, Wiener G3, Lauer A4, Contier M5, Kolbe L6, Trullás Cabanas C7, Boyer F8, Nollent V9, Meredith E10, Dietrich E11, Matts PJ. Validation of an in vitro sun protection factor (SPF) method in blinded ring-testing. Int J Cosmet Sci. 2018 Apr 20



RESISTÊNCIA À ÁGUA

ISO 24444: 2010 + COLIPA 2005

$$FPSs \text{ (estático)} = \frac{MEDp \text{ (pele protegida)}}{MEDu \text{ (pele desprotegida)}}$$

ANTES DA IMERSÃO
ISO 24444

$$FPSw \text{ (imersão)} = \frac{MEDpw \text{ (pele protegida)}}{MEDuw \text{ (pele desprotegida)}}$$

APÓS A IMERSÃO
COLIPA

$$\% \text{ Retenção de Resistência à água (\%RRA)} = \frac{FPSw - 1}{FPSs - 1} \times 100$$

Procedimentos do Estudo

- 1) Marcação dos sítios e aplicação do produto e controle estáticos *
- 2) Irradiação MEDu, produto e controle estático (exposição UV) *
- 3) Aplicação do produto imersão *
- 4) Imersão em água (40 ou 80 minutos)
- 5) Irradiação MEDu e produto imersão (exposição UV) *
- 6) Leitura dos eritemas *
- 7) Cálculo do FPS estático e após imersão *

* Procedimento igual ao descrito para ISO24444



FATOR DE PROTEÇÃO **UVA (FP-UVA)**



ISO 24442: 2011 (IN VIVO)

$$FP - UVA = \frac{MPPDp \text{ (pele protegida)}}{MPPDu \text{ (pele desprotegida)}}$$

MPPD = MINIMAL PERSISTENT PIGMENT DARKENING DOSE
(MÍNIMA DOSE DE PIGMENTAÇÃO PERSISTENTE)

"Lowest Ultraviolet A (UVA) dose that produces the first perceptible unambiguous persistent pigment darkening response with defined borders appearing over most of the field of UVA exposure, observed between 2 h and 24 h after the end of the UVA exposure."

"Mínima dose de radiação ultravioleta A (UVA) capaz de produzir a **primeira** resposta de pigmentação persistente **perceptível não ambígua** com **bordas definidas** aparecendo na **maioria do subsítio** exposto à radiação, 2 a 24h após o término da exposição."

Procedimentos do Estudo

1. Marcação dos sítios e aplicação dos produtos **
2. Leitura das respostas de pigmentação
3. Irradiação (exposição UV) *
4. Cálculo do FP-UVA

* Semelhante à ISO 24444, porém com as diferenças mostradas a seguir

** Igual à ISO24444

Emissão somente de radiação UVA

Intensidade com progressão de:
25% - MEDu, Controle e Produtos

Leitura das respostas

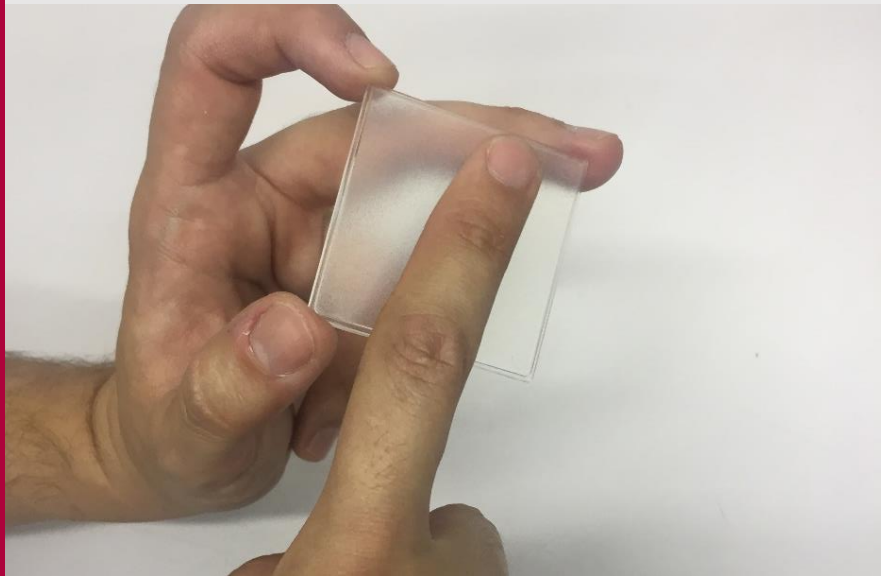
Análoga à leitura de eritemas, porém avalia-se a pigmentação (marcas em tom marrom)



ISO 24443: 2012 (IN VITRO)

Aplicação dos produtos

Placas de PMMA rugosas
 $1,3\text{mg}/\text{cm}^2$



Leitura da Absorbância Inicial

Espectrofotômetro Labsphere UV2000S
Faixa espectral: 290-400nm



ISO 24443: 2012 (IN VITRO)

Necessário saber o FPS do produto
(rótulo ou final in vivo)

Cálculo do FP-UVA inicial e dose de radiação UVA

A- Cálculo do FPS in vitro

A partir da absorbância do produto

$$\text{SPF}_{in vitro} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)} \times d\lambda}$$

B- Cálculo do Coeficiente de Ajuste C

ABS sofre influência de muitas variáveis

Coeficiente de ajuste C

Determinado iterativamente para igualar o FPS
in vitro ao in vivo pré-determinado

$$\text{SPF}_{in vitro, adj} = \text{SPF}_{in vitro} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)C} \times d\lambda}$$

ISO 24443: 2012 (IN VITRO)

Cálculo do FP-UVA inicial e dose de radiação UVA

C- Cálculo do FP-UVA inicial e dose UVA

Cálculo do FP-UVA₀ (absorbância ajustada)

Dose proporcional ao FP-UVA₀

$$UVAPF_0 = \frac{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)C} \times d\lambda}$$

$$D = UVAPF_0 \times 1,2$$

Exposição UV

Simulador Solar

Temperatura Controlada (25 a 35°C)

Radiômetro para controlar a dose



ISO 24443: 2012 (IN VITRO)

Leitura da Absorbância Final

Espectrofotômetro Labsphere UV2000S
Faixa espectral: 290-400nm

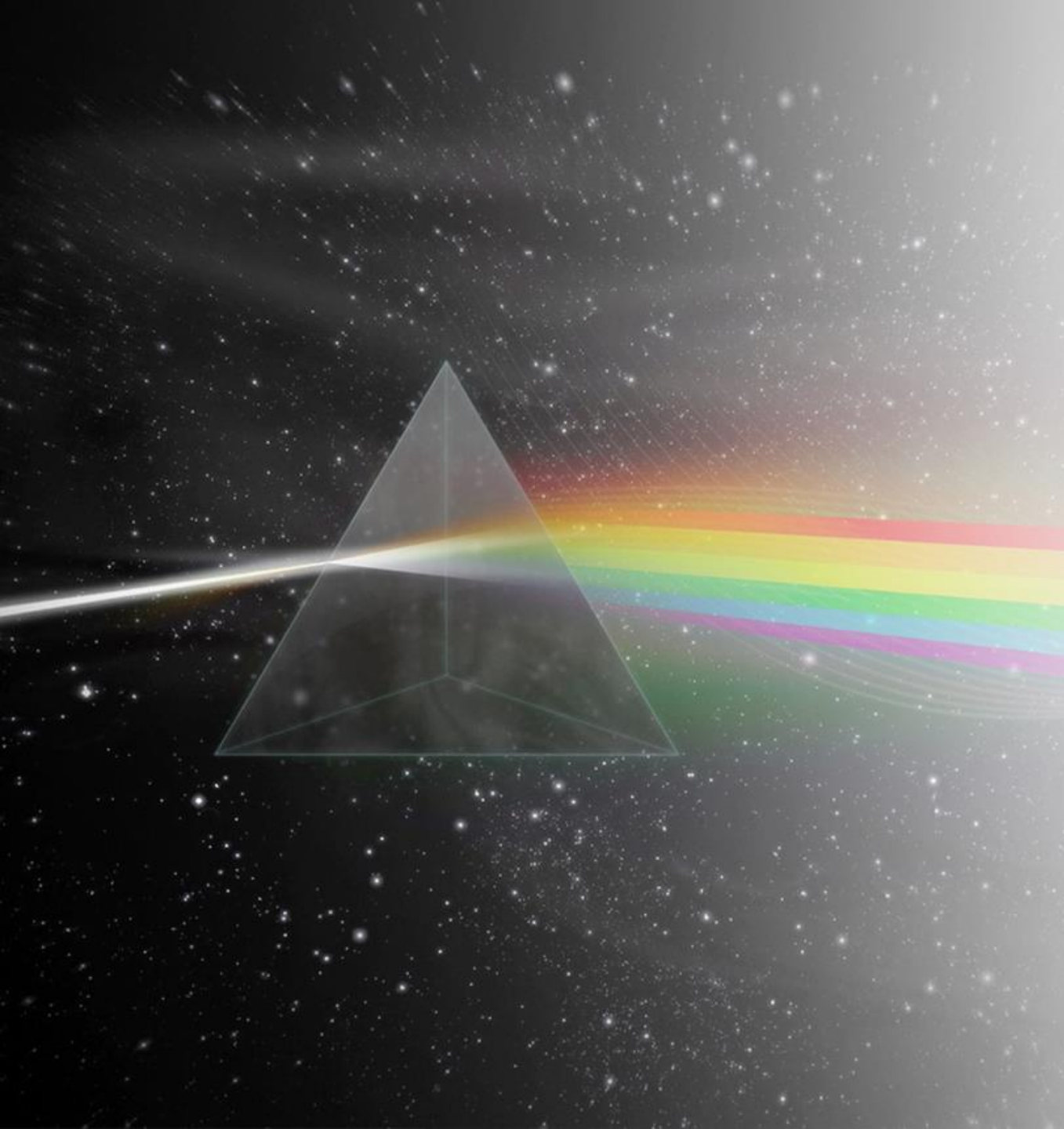


Cálculo do FP-UVA final e Comprimento de Onda Crítico

FP-UVA final

$$UVAPF = \frac{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_e(\lambda)C} \times d\lambda}$$

Igual ao FP-UVA₀, porém considerando Absorbância final

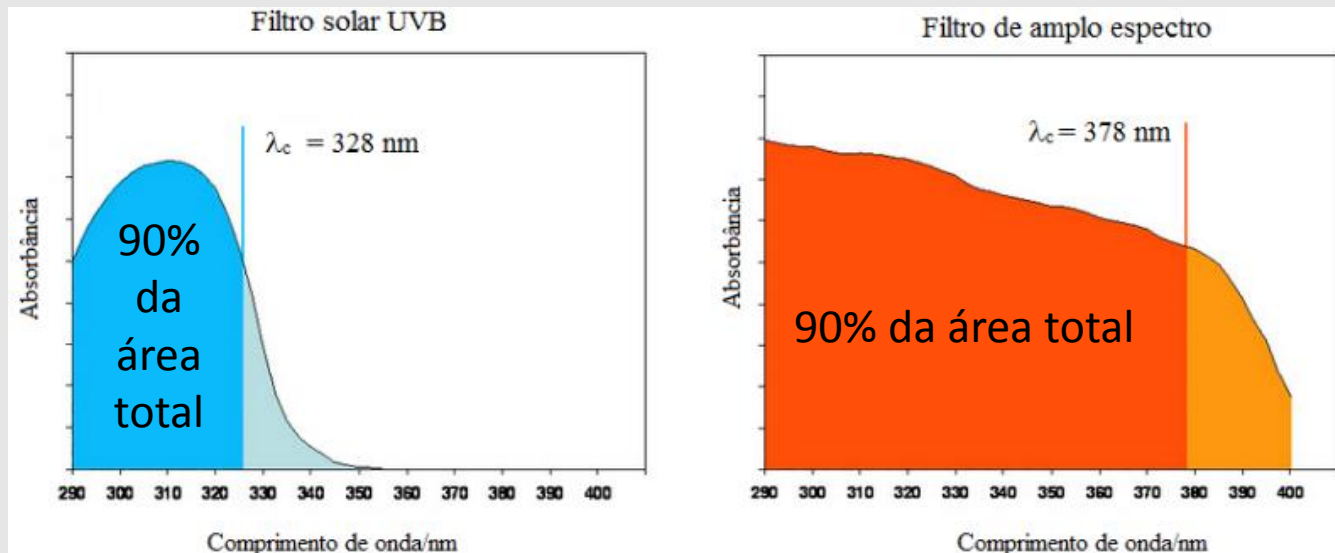


COMPRIMENTO DE ONDA CRÍTICO

ISO 24443: 2012 (IN VITRO)

CÁLCULO: COLIPA 2011

1. Obtenção da curva de absorbância antes e após irradiação conforme ISO24443
2. Cálculo do comprimento de onda crítico (absorbância final)



Equação descrita pela Colipa 2011
ISO 2444 não cita, porém permite
realizar este cálculo, com dados
obtidos conforme ISO

$$\int_{290}^{\lambda_c} A_{\lambda}.d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A_{\lambda}.d\lambda$$