

SEGURANÇA BIOLÓGICA EM COSMÉTICOS: REVISÃO TEÓRICA DE TESTES E ENSAIOS

Cris Carvalho Machado¹, Ricardo Antonio Zatti²

Resumo: *Os cosméticos têm sido utilizados desde décadas, mas o consumo tem aumentado com a passar dos tempos, e, com isso, a preocupação em relação à qualidade dos produtos também tem crescido.*

Palavras-chave: *Cosméticos, ensaios, segurança.*

Introdução

Os cosméticos são utilizados pela humanidade desde a antiguidade e o consumo vem aumentando expressivamente, inclusive no Brasil, que atualmente se apresenta como o terceiro maior mercado de cosméticos mundial. O aumento no consumo vem impulsionando a indústria nacional e tem despertado o interesse de pesquisadores em relação à segurança, à eficácia desses produtos, e sobre a possibilidade de desenvolvimento de reações alérgicas, que podem causar danos graves.

Para a avaliação de possíveis reações adversas, a Legislação Brasileira exige que os fabricantes avaliem a segurança e eficácia de seus produtos através de ensaios experimentais. Nesses testes são utilizados animais e métodos alternativos *in vitro*, que atualmente estão sendo amplamente estudados para substituir a experimentação animal.

Objetivo

Apresentar os principais ensaios biológicos utilizados para avaliar a segurança dos cosméticos, substituindo os ensaios *in vivo* pelos ensaios *in vitro*.

¹ Graduando em Farmácia - FACISA/UNIVICOSA. E-mail: crism_kta@yahoo.com.br

² Gestor do Curso de Farmácia - FACISA/UNIVICOSA. E-mail: zatti@univicosacom.br

Importância dos ensaios biológicos

Os produtos cosméticos podem desenvolver reações adversas e efeitos tóxicos nos usuários, principalmente em função de fatores individuais ou uso inadequado do produto. Antes da comercialização, os cosméticos passam por ensaios toxicológicos, entretanto, como esses testes são realizados em animais, o uso em humanos pode resultar em manifestações alérgicas específicas. Outro fator associado às reações adversas provenientes do uso de cosméticos e produtos de higiene corporal é a utilização de extratos vegetais nas formulações. O uso desses ativos naturais tem crescido consideravelmente nos últimos anos, e, como existem poucos relatos na literatura em relação à atividade mutagênica ou fototóxica desses produtos, tem se tornado cada vez mais necessário o uso de ensaios de segurança para essas formulações cosméticas. Segundo o Guia para avaliação da segurança de produtos cosméticos, elaborado pela ANVISA (Brasil, 2003), o responsável por um produto cosmético deve empregar recursos técnicos e científicos suficientemente capazes de reduzir possíveis danos aos usuários.

Substituição dos ensaios biológicos

Em função da variabilidade genética apresentada pelas espécies de animais experimentais em relação à espécie humana, e considerando as determinações referentes à ética na experimentação animal, novas alternativas são buscadas para substituir o uso de animais em ensaios toxicológicos e de segurança de fármacos e cosméticos. Nesse contexto, vários métodos *in vivo* estão sendo substituídos por modelos *in vitro*, e na impossibilidade de exclusão de modelos animais, tem-se buscado utilizar número menor de animais ou até mesmo utilizar os mesmos animais para diferentes ensaios (GAD, 1990; MARONA et al., 2003; 2004).

Segundo o regulamento (CE) nº 1223/2009 do Parlamento Europeu, foram proibidos ensaios de toxicidade *in vivo* para ingredientes cosméticos e para a determinação de dose tóxica. Essa medida foi adotada pela União Europeia em 2013 (PAUWELS & ROGIERS, 2007; ADLER et al., 2011). Em substituição ao uso de animais nesses estudos, já se encontra disponível o

teste de fototoxicidade citotoxidade, descrito por órgãos regulatórios, como a ANVISA (*Agência Nacional de Vigilância Sanitária*), a COLIPA (*The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association*) e a OECD (*Organization for Economic Co-operation and Development*).

Ensaios biológicos *in vivo* aplicados a cosméticos

Para avaliação biológica de produtos cosméticos, são realizados os testes de irritação ocular, atividade fototóxica, potencial de irritação cutânea e da absorção pela pele.

Avaliação do potencial de irritação ocular

O ensaio biológico para avaliação do potencial de irritação ocular é baseado nos estudos de Draize et al. (1944), que consistem em testar o potencial de irritação ocular de produtos químicos. Esse teste tem sido alvo de críticas no que diz respeito ao bem estar dos animais, porém, nenhum teste *in vitro* ainda foi aceito para essa finalidade.

Avaliação da atividade fototóxica

A avaliação fototóxica é realizada utilizando-se um grupo de quatro cobaias albinas de 300 a 450 gramas, com o pêlo raspado e depilado. Nesse teste, a pele sem sinais de irritação deve ser dividida em quatro partes com o tamanho de 2,5 cm². Em duas partes é administrado 0,1 mL da amostra e nas outras duas áreas 0,1 mL da solução 0,1% de 8-metoxipsoraleno. Após a administração do teste e da solução controle é irradiada sob as cobaias uma fonte de luz UV de 15 Watts. A intensidade das lesões e eritemas formados é avaliada segundo a escala internacional: 0 = nenhuma reação, 1 = eritema fraco, 2 = eritema moderado e 3 = eritema severo (RAMOS et al., 2005).

Avaliação do potencial de irritação cutânea

A irritação cutânea *in vivo* deve ser realizada de acordo com o Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos (Brasil, 2003), enquanto que a avaliação dos eritemas ou edemas deve ser feita de acordo com a escala de Draize.

Avaliação da absorção cutânea

No estudo de absorção cutânea deve-se utilizar o método *in vivo* para preservar um modelo fisiológico e metabolicamente intacto. Para realizar o ensaio, a substância em análise é marcada radioativamente e aplicada na pele do animal. Após tempo determinado, deve-se eutanasiar cada grupo de animais, em diferentes tempos para a análise do sangue e do local onde foi aplicada a substância, permitindo assim, a análise do perfil de absorção da substância ativa.

É sugerido pela ANVISA um conjunto de ensaios *in vitro*, em substituição aos apresentados anteriormente, com a finalidade de fornecer informações a respeito da segurança dos produtos cosméticos sem a utilização de animais experimentais.

A nível ocular, entre os testes disponíveis, existe o modelo epitelial de córnea de coelhos (Rabbit Corneal Epithelial - RCE), utilizado para avaliar o potencial de irritação ocular *in vitro* de produtos químicos. Nesse modelo, é cultivada uma cultura estratificada de células epiteliais da córnea de coelhos e os resultados desse teste são compatíveis com os resultados dos testes de Draize (MATSUDA et al., 2007).

A avaliação da fototoxicidade é feita por meio de ensaio microbiológico, que é utilizado na identificação de produtos que causam toxidade quando aplicados na pele exposta ao sol. Nesse método são utilizadas cepas selvagens de *Saccharomyces cerevisiae* (D273-10B) e *Candida albicans* (ATCC 1023). São aplicadas em filtros de papel estéreis amostras do produto a ser avaliado, enquanto que na superfície dessas placas deve ser aplicada uma fonte de luz UV á 15 Watts, com um comprimento de onda de 300- 390 nm (UVA). A zona clara em torno da substância, presente sob iluminação, mas ausente no escuro, fornece a evidência de fotossensibilização do produto (RAMOS et al., 2005).

Para determinação da absorção *in vitro*, são utilizadas membranas biológicas ou sintéticas. Esse método tem como objetivo medir a difusão de substâncias químicas através de uma membrana, coletadas em um sistema. Atualmente, o ensaio de permeação *in vitro* tem sido realizado utilizando-se células de Franz modificadas.

Avaliação da atividade mutagênica

Na avaliação da atividade mutagênica é utilizada a metodologia de Maron e Ames. Nesse ensaio utiliza-se cepas TA97, TA98, TA100 e TA102 de *Salmonella typhimurium*. Esse método é mundialmente aceito para a identificação de substâncias que podem causar mutações gênicas.

Uso de pele artificial para ensaios in vitro em cosméticos

A pele de ratos do tipo murinos tem sido usada com frequência para testes de comparação de eficácia e segurança dos produtos cosméticos. Em função das diferenças teciduais entre a pele humana e a dos ratos murinos, tem-se utilizado como alternativa o cultivo de células da epiderme humana como uma alternativa ao método para testar a irritação, genotoxicidade e fototoxicidade.

Conclusão

Os ensaios biológicos são bastante usados na avaliação da segurança dos produtos cosméticos, especialmente por fornecerem informações que irão prevenir reações adversas e efeitos tóxicos de princípios ativos e excipientes utilizados em cosmetologia. Há uma tendência mundial pela substituição de métodos *in vivo* por alternativas sem a utilização de animais.

Referências Bibliográficas

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação da segurança de produtos cosméticos**. 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/index.htm>≥

GAD, C. S. Recent developments in replacing, reducing, and refining animal use in toxicologic research and testing. **Fundam Appl Toxicol**. v.15, n.1, p. 8-16, 1990.

MARONA, H. R. N., LUCCHESI, M. B. B. Protocol to refine intestinal motility test in mice. **Lab Anim**. v.38, p. 257-60, 2004.

MARONA, H. R. N., LUCCHESI, M. B. B. Refining the intestinal motility test in mice to reduce animal stress. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.** v. 24, n. 1, p. 79-82, 2003.

MATSUDA, S., HISAMA, M., SHIBAYAMA, H., ITOU, N., IWAKI, M. *In vitro* eye irritancy test of polyoxyethylene alkyl derivatives using a reconstructed rabbit corneal epithelium model. **Biol Pharm Bull.** v. 32, n. 5, p. 807-12, 2009.

PAUWELS, M., ROGIERS, V. E. Legislations affecting safety data availability of cosmetic ingredients. **Regul Toxicol Pharmacol.** v. 49, n. 3, p. 308-15, 2007.

RAMOS, M. F. S., et al. Avaliação fototóxica e *screening* mutagênico de extratos de própolis, *Aloe* spp. e *Hamamelis virginiana*. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.** v. 26, n. 2, p. 105-11, 2005.