

Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos

3 - Atributos ligados à segurança

Atributo de segurança	Significado/ Comentários	En
Dermatologicamente testado	Avaliado em humanos sob controle de médico dermatologista, para verificar potencial de reações cutâneas	En cu ca en cu no por médico dermatologista
Oftalmologicamente testado	Avaliado em humanos em condições de uso, sob controle de médico oftalmologista para verificar potencial de reações oftálmicas	Ensaio de aceitabilidade, em indivíduos hígidos, analisando-se reações oftálmicas 19 21 22
Clinicamente testado	Avaliado em humanos em condições de uso, sob controle de médico dermatologista e eventualmente de outro especialista para verificar potencial de reações.	Ensaio de aceitabilidade em indivíduos hígidos, analisando-se particularidades dos sítios de uso. Ex: mucosa oral e dentes, por dentista, em produtos de higiene oral; mucosa e pele genital, em produtos de cuidados íntimos, por ginecologista, etc. 19 21 22 41 42
Não comedogênico	Avaliado em humanos para observar o potencial de formar comedões (cravos)	Ensaio oclusivos de contato repetido em indivíduos negros /ou ensaios de uso por 4 semanas, ambos com acompanhamento dermatológico, com monitoramento do número de comedões antes e depois, ou contra um controle 48
Não Acnegênico	Avaliado em humanos para observar o potencial de formar ou piorar espinhas/acne	Ensaio em uso por 3-4 semanas, em indivíduos com predisposição a acne e/ou pele oleosa 41 42

continua na próxima página



**Agência Nacional
de Vigilância Sanitária**



Diretor-Presidente
Gonzalo Vecina Neto

Diretores
Cláudio Maierovitch P. Henriques
Luis Carlos Wanderley Lima
Luiz Milton Veloso Costa
Ricardo Oliva

Gerência-Geral de Cosméticos
Josineire Melo Costa Sallum – Gerente-Geral
Silas Paulo R. Gouveia – Gerente-Geral Substituto

reimpressão em maio de 2003

E-mail: cosmeticos@anvisa.gov.br
Copyright@ ANVISA, 2003

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos

Brasília
2003

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA

Equipe técnica:

Grupo de Trabalho designado pela Gerência-Geral de Cosméticos

Ana Lúcia Pereira	Gerência-Geral de Cosméticos / ANVISA
Maria Honório de Lima	Gerência-Geral de Cosméticos / ANVISA
Elisabeth M. Cunha Silva	Gerência-Geral Laboratórios de Saúde Pública / ANVISA
Emiro Khury	Associação Brasileira de Cosmetologia
Jadir Nunes	Associação Brasileira de Cosmetologia
Flavia Addor	Laboratório Privado
Samuel S. Guerra Filho	Laboratório Privado
Sonia Yokoto	Ass.Bras.Ind. de Higiene, Perfum. e Cosméticos
Lígia Myamaru	Laboratório Oficial
Octávio A. F. Presgrave	Laboratório Oficial
Dermeval de Carvalho	Câmara Técnica de Cosméticos
Philippe Masson	Comunidade Européia

Agradecimento especial à Dra. Beatriz Cesar, pela contribuição apresentada

Divulgação:

Unidade de Divulgação

Design:

Gerência de Comunicação Multimídia

Apresentação

Diante da sempre crescente necessidade de informações relacionadas à avaliação de segurança dos produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes com o objetivo de garantir a segurança sanitária dos mesmos e, ainda, visando o monitoramento destes produtos no mercado, a Gerência-Geral de Cosméticos da ANVISA coordenou a elaboração deste Guia.

Sem a pretensão de esgotar o tema, este trabalho busca preencher uma lacuna referente à disponibilidade de material técnico nesta área, de âmbito nacional, servindo como instrumento de referência para todos os agentes envolvidos. Como resultado espera-se que a aplicação dessas informações possa contribuir para uma melhor qualidade dos produtos e conseqüentemente, melhor desempenho das ações de controle.

Foi um trabalho árduo e demorado, mas de extrema gratificação pelo empenho e dedicação profissional que marcaram todas suas etapas. Por isto, meus sinceros agradecimentos a todo o grupo que tanto se empenhou na realização deste trabalho, mas em especial ao Diretor Presidente Dr. Gonzalo Vecina Neto pela confiança na Gerência-Geral de Cosméticos, e ao Gerente-Geral Substituto Silas Paulo Resende Gouveia pelo incentivo.

Josineire M.C.Sallum
Gerente-Geral de Cosméticos

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	07
2 - CONSIDERAÇÕES GERAIS NA AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS	09
2.1 - Noção de risco cosmético	10
2.2 - Critérios a serem observados na avaliação de segurança	11
3 - AVALIAÇÃO DOS INGREDIENTES A SEREM UTILIZADOS EM FORMULAÇÕES COSMÉTICAS	13
3.1 - Parâmetros a serem observados na avaliação dos ingredientes	13
3.1.1 - Caracterização	13
3.1.2 - Aplicação cosmética	14
3.1.3 - Dados toxicológicos	14
3.1.4 - Informação disponível sobre os ingredientes	16
4 - AVALIAÇÃO DO RISCO POTENCIAL DE PRODUTOS COSMÉTICOS	17
4.1 - Parâmetros a serem considerados na avaliação de produtos cosméticos	17
4.2 - Sugestão para avaliação de segurança de produtos cosméticos	18
4.2.1 - Avaliação do potencial irritante	18
4.2.2 - Avaliação do potencial alergênico	18
5 - METODOLOGIAS	19
5.1 - Ensaio pré-clínicos	19
5.1.1 - Critérios a serem avaliados	21
5.1.2 - Ensaio <i>in vitro</i>	22
5.1.3 - Ensaio em animais	24
5.2 - Ensaio clínico	27
6 - AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA BASEADO NA SEMELHANÇA DE PRODUTOS	29
7 - CRITÉRIOS ÉTICOS NA AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS EM HUMANOS	31
ANEXOS	33
1 - Metodologia <i>in vitro</i>	34
2 - Testes em animais	35
3 - Atributos ligados à segurança	36
BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	39

1 - INTRODUÇÃO

De acordo com a definição conferida pela Legislação vigente, Cosméticos, Produtos de Higiene e Perfumes “são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e/ou corrigir odores corporais e/ou protegê-los ou mantê-los em bom estado”. Com o objetivo de facilitar a leitura deste guia, a expressão “Produtos Cosméticos, de Higiene e Perfumes” será substituída pela expressão “produtos cosméticos” abrangendo assim, toda a classe designada anteriormente.

A avaliação da segurança deve preceder a colocação do produto cosmético no mercado. A empresa é responsável pela segurança do produto cosmético, conforme assegurado pelo Termo de Responsabilidade apresentado, onde a mesma declara possuir dados comprobatórios que atestam a eficácia e segurança de seus produtos (Resolução 79/00, Anexo XXI e suas atualizações).

Uma vez que o produto cosmético é de livre acesso ao consumidor, o mesmo deve ser seguro nas condições normais ou *razoavelmente previsíveis de uso*^(a). A busca dessa segurança deve incorporar permanentemente o avanço do estado da arte da ciência cosmética.

Com a finalidade de atender as necessidades de mercado e assegurar a saúde dos consumidores a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, através da Gerência Geral de Cosméticos, coordenou um grupo especial de trabalho constituído por Pesquisadores, Representantes do Setor Produtivo e Laboratórios Oficiais, para elaboração deste “**Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos**” de caráter orientativo, com o objetivo de sugerir critérios para avaliação de segurança dos produtos cosméticos e fornecer os subsídios para este fim.

a) Condições de uso não indicadas na rotulagem porém, com certa probabilidade de ocorrência (ex: xampu nos olhos).

2 - CONSIDERAÇÕES GERAIS NA AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS

É de inteira responsabilidade do fabricante, do importador ou do responsável pela colocação do produto no mercado, garantir sua segurança para os consumidores nas condições normais ou razoavelmente previsíveis de uso.

Considerando que a ausência de risco não existe segundo se depreende da literatura consultada e, dadas as dificuldades para estabelecer conceitos relativos a uma condição razoavelmente previsível de uso, o responsável por um produto cosmético deve empregar recursos técnicos e científicos suficientemente capazes de reduzir possíveis danos aos usuários, ou seja:

- a) formulando o produto com *ingredientes referenciados*^(b) que sejam os mais seguros possíveis;
- b) deixando uma margem de segurança entre o nível de risco e o nível de uso do produto;
- c) informando o consumidor, da maneira mais clara possível, a fim de evitar mau uso do produto;
- d) seguindo as *Boas Práticas de Fabricação e Controle*^(c).

Em razão da grande complexidade que envolve parâmetros relacionados às avaliações de risco, algumas considerações se tornam necessárias para um maior entendimento do assunto.

- 1 - Dano e risco: o dano é o prejuízo à saúde em função da propriedade inerente de uma substância; o risco é a probabilidade de ocorrência do dano;
- 2 - Os ingredientes para uso em produtos cosméticos devem ser avaliados em termos de risco e não de dano, conseqüentemente a avaliação do risco deve relacionar o dano com o nível de exposição;
- 3 - A avaliação de segurança deve atender o conhecimento dos parâmetros toxicológicos de interesse dos ingredientes com base em dados correntes, observadas as condições de uso do produto cosmético e o perfil do consumidor alvo;
- 4 - A avaliação de segurança de um produto cosmético, certamente, exige o pleno conhecimento nas áreas de farmacotécnica, toxicologia, farmacocinética, fases clínica, regulatória, entre outras.

b) Ingredientes constantes em Compêndios e Legislação.

c) Normas que estabelecem padronização, procedimentos, métodos de controle de qualidade e métodos de fabricação.

2.1 - Noção de risco cosmético

Devido a sua diversidade, o risco do produto cosmético deve ser avaliado por diferentes abordagens:

Condições de uso:

- Aplicação regular e prolongada, como por exemplo, os produtos para cuidados pessoais (desodorantes, condicionadores, cremes de tratamento, etc);
- Aplicação ocasional, geralmente os produtos com função específica (tintura capilar, depilatório, esfoliantes, etc);
- Aplicação regular, durante um tempo limitado, de acordo com a frequência de uso, como no caso dos produtos enxaguáveis.

Área de contato :

- Aplicação em áreas específicas e limitadas da pele, por exemplo perfumes, esmaltes, e outros;
- Aplicação extensa sobre a pele, como os produtos para cuidado de rosto e corpo.
- Aplicação sobre mucosas (lábios, cavidade bucal, órgãos genitais externos), como por exemplo, batom, dentifrícios, sabonetes íntimos, etc;
- Aplicação na área dos olhos (sombras, delineadores, cremes);
- Aplicação no cabelo, com ou sem enxágüe (xampus, condicionadores, tinturas capilares, etc).

Deve-se também contemplar aqui o caso dos produtos que, devido as condições de uso ou a sua forma cosmética, podem ser parcialmente inalados ou ingeridos, como por exemplo aerossóis e produtos para higiene bucal.

Tipos de reação que podem ser observadas:

- Irritação: intolerância local podendo corresponder a reações de desconforto menores, mas também a reações mais ou menos agudas, variando sua intensidade, desde ardor, coceira e pinicação podendo chegar até a corrosão e destruição do tecido. Todas estas reações se restringem à área em contato direto com o produto;
- Sensibilização: corresponde a uma alergia, que é uma reação de efeito imediato (de contato ou, urticária) ou tardio (hipersensibilidade). Ela envolve mecanismos imunológicos e pode aparecer em outra área, diferente da área de aplicação. Portanto, é importante insistir que no campo da imunologia deve-se, não apenas, verificar se um produto pode desencadear uma resposta alérgica em pessoas pré-sensibilizadas, mas também, verificar se o próprio produto não é capaz de induzir uma reação alérgica ao consumidor;

- Efeito sistêmico: resultante da passagem de quaisquer ingredientes do produto para a circulação geral, diretamente por via oral, inalatória, transcutânea ou transmucosa, metabolizados ou não. Vê-se aqui a necessidade de avaliar o risco dos ingredientes que constituem a fórmula.

2.2 - Critérios a serem observados na avaliação de segurança

Conforme mencionado, a avaliação de segurança de um produto cosmético pressupõe uma abordagem caso a caso, observando-se, preliminarmente, todas as informações disponíveis que contribuam para o conhecimento do risco potencial, em condições normais ou razoavelmente previsíveis de uso. Deve-se considerar também os seguintes parâmetros:

Condições de uso:

- Categoria de produto e finalidade de uso;
- Modo de aplicação;
- Quantidade de produto por aplicação;
- Frequência de uso;
- Tempo de contato;
- Área e superfície de aplicação;
- Consumidor alvo;
- Advertências e restrições de uso.

Composição do produto:

- Fórmula qualitativa;
- Concentração dos ingredientes;
- Dados toxicológicos sobre ingredientes desconhecidos, de *uso restrito* ou *regulamentados*^(d);
- Existência de restrições ou regulamentações específicas para algum ingrediente;
- Possíveis interações entre ingredientes;
- Nível de exposição (capacidade de absorção);
- Margem de segurança para os ingredientes mais críticos.

Histórico e conhecimento do produto:

- Dados disponíveis sobre o próprio produto e/ou sobre produtos semelhantes;
- Dados experimentais existentes sobre o próprio produto e/ou sobre produtos semelhantes, em relação à avaliação de risco;

d) Ingredientes que apresentam restrições (limitações de concentração e/ou campo de aplicação) previstas na legislação vigente.

- Literaturas especializadas, órgãos regulatórios, entidades do setor privado e entidades afins, de reconhecido valor científico.

Deve-se atentar, ainda, aos dados que foram resultantes de pesquisas ou experimentações específicas necessárias, para obter ou completar as informações.

De maneira geral, deve-se considerar que:

- Na grande maioria dos casos, o risco sistêmico é avaliado a partir dos dados relativos às matérias primas. Não se conhece efeitos toxicológicos sistêmicos em produtos acabados que não sejam causados pelos próprios ingredientes. Portanto, é importante prever este tipo de risco para os produtos que eventualmente possam ser ingeridos ou inalados, ou aqueles destinados a uma população em particular (crianças, gestantes, etc.);
- Ao contrário, as reações de irritação, decorrentes da penetração cutânea ou de mucosa dos ingredientes, estão relacionadas às concentrações de uso no produto final e sua formulação cosmética;
- Entre estas duas situações extremas, o risco de alergia pode decorrer tanto em função dos ingredientes quanto do produto final. Na realidade, a reação é basicamente atribuída a algum ingrediente cuja reatividade pode ser desencadeada ou potencializada pela fórmula do produto acabado.

Assim, com base nas informações obtidas, pode-se chegar a alguma das seguintes conclusões:

- a) Os dados são suficientemente claros para assegurar o uso do produto cosmético avaliado por parte dos consumidores, respeitadas as condições normais ou razoavelmente previsíveis de uso;
- b) Os dados disponíveis permitem a comercialização do produto em condições restritas de uso, claramente expressas na rotulagem;
- c) Os dados não são suficientes para atestar a segurança do produto e necessita-se empreender novas pesquisas ou testes adicionais para avaliar a ausência de risco para os consumidores alvo;
- d) Os dados são suficientes para desaconselhar a comercialização do produto.

Para qualquer uma das premissas acima referidas, o relatório final deve ser apresentado de forma clara, objetivo, devidamente documentado e conclusivo, devendo o mesmo ser preparado por profissional habilitado, ficando, no entanto, passível das sanções previstas, os responsáveis técnico e legal.

3 - AVALIAÇÃO DOS INGREDIENTES A SEREM UTILIZADOS EM FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

Apesar de numerosos, os produtos cosméticos são formulados com um número razoavelmente restrito de ingredientes.

Como foi apresentado no item 2.2 deste Guia e, uma vez que os efeitos observados resultantes do produto acabado são, em boa parte, dependentes dos seus componentes, o conhecimento do perfil toxicológico dos mesmos permite avaliar o perfil das pesquisas em produtos acabados, desde que respeitada a sua forma galênica (cosmética) e, especialmente, a associação de ingredientes.

Desta maneira, necessita-se dispor do melhor conhecimento possível para cada ingrediente utilizado, tanto no que diz respeito às suas características, bem como, a seus dados toxicológicos, levando-se em conta os vários riscos potenciais ligados ao uso cosmético. Esta medida é, com certeza a melhor maneira de evitar problemas posteriores quanto ao comportamento do produto final, seja durante seu desenvolvimento ou mesmo após sua colocação no mercado.

Até o presente tem sido mais acessível a busca de informações técnicas, de ordem científica e normativa para a maioria dos ingredientes químicos, enquanto que para as substâncias obtidas de extratos naturais, vários fatores estão associados desde o seu plantio até o seu preparo farmacognóstico, fatores estes que podem conferir às substâncias presentes um grau enorme de contrastes, cujos valores sem dúvida alguma podem interferir na avaliação toxicológica do produto acabado.

3.1 - Parâmetros a serem observados na avaliação dos ingredientes

Os ingredientes de produtos cosméticos podem ser substâncias químicas, extratos de origem botânica ou animal, ou associação de ingredientes, como por exemplo, as fragrâncias.

Esta consideração leva a pensar que os parâmetros a serem contemplados na avaliação da segurança de uso de tais componentes, dependem de sua categoria.

3.1.1 - Caracterização

É desejável a disponibilização dos seguintes dados, para qualquer ingrediente:

- Nome comercial;
- Codificação *INCI*^(e), quando houver;
- Número *CAS*^(f) ou *EINECS*^(g);

e) *International Nomenclature Cosmetic Ingredient*.

f) *Chemical Abstracts Service*.

g) *European Inventory of Existing Chemical Substances*.

- Especificações físico-químicas, microbiológicas e de estabilidade;
- Método de identificação;
- Restrição de uso;
- Condições particulares de estocagem e manuseio.

3.1.2 - Aplicação cosmética

- Concentração de uso indicada pelo fornecedor;
- Restrições regulamentares de uso;
- Outros usos.

3.1.3 - Dados toxicológicos

O produto cosmético deve ser seguro para o usuário nas condições normais ou razoavelmente previsíveis de seu uso. Isto significa que os ingredientes devem ser incorporados na fórmula do produto cosmético num nível de concentração que apresente uma margem de segurança adequada.

A margem de segurança (MS) é definida como a relação entre a dose experimental mais elevada, que não produz qualquer efeito sistêmico adverso depois de um mínimo de 28 dias de ingestão oral, em espécie(s) animal(is) seguindo as recomendações internacionais, (*NOAEL*), e a dose diária absorvida, a qual o consumidor pode ser exposto por via cutânea (*DS*).

$$MS = \frac{NOAEL}{DS}$$

Para fins de avaliação da margem de segurança de produtos cosméticos esta relação não deve ser menor que 100. No entanto, este valor estimado não deve ser utilizado quando a toxicidade não está relacionada à concentração de uso do ingrediente, a exemplo de substâncias potencialmente mutagênicas, carcinogênicas ou que apresentem efeitos na reprodução.

Por esta razão, além do conhecimento do nível de absorção cutânea e de toxicidade subaguda, um certo número de informações complementares é necessário para o conhecimento do risco de uso dos ingredientes utilizados em preparações cosméticas.

A lista de pesquisas que se segue, de caráter indicativo, considera os três tipos possíveis de riscos cosméticos potenciais e deve ser contemplada, caso a caso, em função do conhecimento já adquirido pelo formulador e pelo avaliador de segurança, e também em função da categoria do produto em consideração :

a) Dados básicos úteis para qualquer ingrediente:

Absorção cutânea:

Como indicado previamente, o conhecimento desta informação dá uma boa idéia da previsibilidade e também permite o cálculo da margem de segurança. Quando não se pode ou não se deseja fazer a pesquisa, deve-se então, considerar que 100% da substância é absorvida.

Estudo do potencial de efeito sistêmico:

- Toxicidade aguda (por via oral, em uma espécie sensível);
- Teste de mutagenicidade.

Estudo do potencial de efeito alergênico:

- Teste de alergenicidade.

Estudo do potencial de risco irritativo:

- Irritação primária da pele;
- Irritação primária da mucosa (ou ocular).

b) Dados complementares úteis em situações particulares:

Estudo do risco sistêmico potencial :

- Toxicidade subaguda: desejável quando o ingrediente é destinado ao uso diário, sem enxágüe; também é necessário para o cálculo da margem de segurança;
- Estudo do efeito na reprodução (fertilidade, teratogenicidade peri/pós-natal): somente necessária quando o ingrediente pertence a uma família química com suspeita de risco ou se utilizado em produtos indicados para gestantes;
- Fotomutagenicidade: somente para ingredientes que absorvem os raios ultravioleta entre 290 e 400 nm.

Estudo do risco irritativo potencial:

- Irritação por efeito cumulativo (desejável quando o ingrediente é destinado a ser utilizado em produtos de uso regular, sem enxágüe).

Avaliação de riscos particulares:

Pesquisas de caráter particular podem ser necessárias, caso a caso, para complementar a informação toxicológica quando se suspeita, por exemplo, de qualquer risco devido ao conhecimento de efeito adverso de um ingrediente cuja estrutura química seja semelhante (teratogenicidade, carcinogenicidade, genotoxicidade, toxicidade reprodutiva).

Para que qualquer teste possa ser utilizado na avaliação de segurança de um produto cosmético, deve ser elaborado protocolo de estudo segundo recomendado pela legislação vigente e reconhecidas as boas práticas de laboratório.

Na falta de disponibilização de métodos substitutivos *in vitro* adequados e válidos, e por razões éticas evidentes, a maioria destes testes feitos com ingredientes só pode ser razoavelmente avaliada, hoje, em animais. No entanto, é da responsabilidade do pesquisador, bem como, dos avaliadores dos dados, a redução máxima do número de animais de laboratório utilizados e também, a máxima redução de seu sofrimento.

3.1.4 - Informação disponível sobre os ingredientes

Os fornecedores de ingredientes constituem a maior fonte de informação, uma vez que os ingredientes devem satisfazer a legislação nacional em termos de condições de manuseio, de transporte e de rotulagem. Vários compêndios podem ser utilizados para completar a informação. Entretanto, nem todas fornecem o mesmo nível de conhecimento sobre o risco de uso. Algumas listas apresentam a indicação de uso do ingrediente e, algumas vezes, informações quanto às suas restrições. É o caso, por exemplo, do INCI, do Inventário publicado pela Comissão Europeia e do *IFRA*^(h) index (perfumes).

Outras listas trazem informação toxicológica de ingredientes com relação ao uso cosmético. É o caso, por exemplo, do *CIR*⁽ⁱ⁾ e das opiniões dadas pelo Comitê Científico de Cosmetologia da Comissão Europeia (*SCCNFP*)^(j), que fornecem avaliações toxicológicas de ingredientes cosméticos feitas por painéis de cientistas independentes.

Outras referências dão uma informação de caráter mais geral, porém, úteis para obtenção de dados sobre as características físico-químicas dos ingredientes, como por exemplo, o Merck Index e o The Martindale Extra Pharmacopeia.

Em função do país, ou dos países, onde se pretende comercializar um produto cosmético deve-se também verificar na legislação se os ingredientes utilizados são aceitos ou submetidos à restrições de uso. Além de casos particulares, é sempre necessário conferir a possibilidade e nível de uso aceitável para três categorias de ingredientes: corantes, conservantes e filtros solares.

Além das fontes acima referidas, ainda estão disponíveis bancos de dados que também podem ser utilizados para se obter informações úteis quanto às características e ao perfil toxicológico dos ingredientes. Mesmo contando com meios para a busca de dados necessários para segurança de produtos cosméticos, deve-se observar o máximo rigor científico na análise dos dados fornecidos pelas fontes utilizadas, os quais devem ser apropriados para o ingrediente e sua utilização no produto acabado.

h) *International Fragrance Association*.

i) *Cosmetic Ingredient Review*.

j) *Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Foodstuff intended for Consumers*.

4 - AVALIAÇÃO DO RISCO POTENCIAL DE PRODUTOS COSMÉTICOS

Como já foi mencionada, a maioria das informações necessárias na avaliação do risco potencial de um produto cosmético resulta do conhecimento dos ingredientes que compõem sua fórmula. São eles que podem, diretamente, serem os responsáveis por qualquer efeito sistêmico e por boa parte do risco alergênico. Contudo, a fórmula do produto acabado pode interferir, à medida que facilita a absorção total ou parcial dos ingredientes sendo responsável, também, por possíveis sinergismos, resultantes da associação de ingredientes.

Portanto, o conhecimento disponível dos ingredientes pode não ser suficiente para prevenir um efeito indesejável ao consumidor alvo. Além dos componentes, deve-se avaliar outros parâmetros envolvidos tais como: o uso do produto, área de aplicação, se o produto é enxaguável, se o uso é prolongado e repetido, diário ou não, entre outros. Dessa forma, o risco potencial pode ser diferente, em cada caso.

O avaliador deve observar todos estes parâmetros, garantindo, da melhor maneira possível, a segurança do consumidor em condições normais ou razoavelmente previsíveis de uso de um produto cosmético.

4.1 - Parâmetros a serem considerados na avaliação de produtos cosméticos

Embora os produtos cosméticos sejam aplicados topicamente, um ou mais de seus ingredientes pode permear a barreira cutânea, sendo parcial ou totalmente absorvidos. Alguns produtos, devido à sua apresentação e modo de uso, podem ser ingeridos ou inalados, como por exemplo, os dentifrícios, enxaguatórios bucais e spray para cabelos.

Na avaliação de segurança deve ser considerado o modo de uso do produto, uma vez que esta variável pode determinar diretamente a quantidade que pode ser absorvida, ingerida ou inalada.

Os primeiros parâmetros a serem contemplados são os seguintes:

- Categoria do produto;
- Condições de uso;
- Concentração de cada ingrediente na formulação;
- Quantidade de produto em cada aplicação;
- Frequência de uso;
- Local de contato direto com o produto;
- Superfície total de pele ou de mucosa onde o produto é aplicado;
- Duração do contato;

- Consumidor alvo;
- Possíveis desvios no emprego do produto (uso inadequado ou acidental).

Conhecendo-se a fórmula do produto, pode-se calcular de maneira adequada, a concentração de cada ingrediente que está em contato com a pele. Neste cálculo, deve-se considerar a quantidade total de cada ingrediente incluído, ou constituinte de outro componente (ex: conservantes). Com o conhecimento da absorção dos ingredientes mais críticos é possível então prever, sem nenhum estudo adicional, o risco potencial de exposição do produto.

Uma vez que não há um risco previsível decorrente do uso do produto, pode-se avaliar a fórmula *per si* para determinar a aceitabilidade dos ingredientes nas condições de uso do produto acabado.

Por razões éticas, quando o risco previsível não pode ser suficientemente conhecido é preferível recorrer, segundo o nível de conhecimento, a métodos experimentais *in vitro* ou *in vivo*.

De maneira geral, é melhor privilegiar a avaliação dos riscos irritativos e alergênicos em testes clínicos que apresentam uma melhor idéia da resposta dos consumidores alvo.

4.2 - Sugestão para avaliação de segurança de produtos acabados

4.2.1 - Avaliação do potencial irritante

Produto com risco desconhecido:

- “triagem” com métodos *in vitro* ou, *in vivo* em animais, seguido de teste clínico.

Produto com ausência presumida de risco:

- Teste clínico.

4.2.2 - Avaliação do potencial alergênico

Nível de absorção dos ingredientes desconhecido:

- Teste *in vivo*, em animais.

Produto com ausência presumida de risco:

- Teste clínico.

Presume-se então que as avaliações sugeridas sejam aplicadas caso a caso, no que couber.

5 - METODOLOGIAS

5.1 - Ensaios pré-clínicos

Devido à evolução técnico-científica, na década de 80 iniciou-se o desenvolvimento de modelos experimentais alternativos para a área cosmética, em substituição ao uso de animais de laboratório. Metodologias foram desenvolvidas, inicialmente, para responder corretamente as necessidades de pesquisa em farmacologia, onde se sabe que o comportamento animal pode ser diferente do humano. Os métodos alternativos também foram contemplados para a avaliação de efeitos toxicológicos.

Alguns destes métodos vêm sendo utilizados desde tempos remotos, em particular na área da mutagenicidade onde numerosos testes foram desenvolvidos, validados e integrados nas diretivas internacionais tais como a OCDE (Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico). Também foram utilizados com sucesso para a demonstração de mecanismo de ação específico, sugerindo serem úteis e preditivos no que se refere a sistemas biológicos simples, como por exemplo, nos estudos feitos em microorganismos, células, tecidos e/ou órgãos de animais ou humanos.

A dificuldade no emprego de tais métodos alternativos, hoje, reside na avaliação da reatividade de sistemas mais complexos o que é, na prática, o caso da avaliação de risco toxicológico. É necessário o acesso a uma bateria de testes que sejam complementares, de maneira que o conjunto destes ofereça um resultado com os mesmos níveis científicos e de informação, em relação aos obtidos, anteriormente, com os modelos em animais. Tais modelos alternativos devem ser, portanto, validados, de acordo com os procedimentos internacionais na área de aplicação para que sejam reconhecidos pelo meio científico e pelos órgãos regulamentadores.

Vários esforços tem sido efetuados para a diminuição do uso e do sofrimento de animais. Em 1984, o Governo Britânico concedeu fundos para o desenvolvimento de métodos alternativos ao *FRAME - Fund for Replacement of Animal Medical Experiments* que, desde 1983, edita uma revista internacional intitulada *ATLA - Alternatives to Laboratory Animals*. Em 1994, foi inaugurado o *ECVAM – European Committee for Validation of Alternative Methods* - instituição da Comissão Européia encarregada de promover e validar técnicas e metodologias destinadas à substituição dos ensaios em animais. Algumas instituições, como CTFA - *Cosmetic, Toiletries and Frangrance Association*, IRAG - *Interagency Regulatory Alternatives Group*, FDA - *Food and Drug Administration* e *Alternatives to Animal Testing*, John Hopkins University, Baltimore - USA, são referências para acelerar a padronização e a harmonização de metodologias *in vitro*.

Os 3 R's

A idéia de ensaios alternativos é muito mais abrangente do que a substituição do uso de animais, incluindo também a questão da redução e refinamento na utilização dos mesmos. Este princípio está baseado no conceito dos 3R's (Three R's), o qual foi definido por William Russell e Rex Burch, em 1959, no livro *Principles of Human Experimental Technique*. Os 3 R's que representam o refinamento, redução e substituição (*Refine, Reduction e Replacement*) têm como estratégia, uma pesquisa racional minimizando o uso de animais e o seu sofrimento, sem comprometer a qualidade do trabalho científico que está sendo executado visualizando, futuramente, a total substituição de animais por modelos experimentais alternativos.

Refinamento

O Termo refinamento significa a modificação de algum procedimento operacional com animais, objetivando minimizar a diminuição da dor e o estresse. A experiência da dor e do estresse tem, como resultado, mudanças psicológicas que aumentam a variabilidade experimental dos resultados. O interesse dos cientistas é assegurar que as condições ambientais para os animais sejam as melhores possíveis. Os testes considerados menos invasivos podem ser utilizados para diminuir a angústia causada durante o estudo. Além disto, é importante que toda a equipe envolvida seja bem treinada e competente no que se refere a correta atitude em relação aos animais.

Redução

A concepção de redução como alternativa estratégica, resulta em menor número de animais sendo utilizados para obter a mesma informação, ou maximização da informação obtida por animal. Existem várias possibilidades para redução do uso de animais. Alguns laboratórios alertam todos os pesquisadores quando as pesquisas levam o animal a morte. Assim, é dada preferência para pesquisas que utilizem os vários órgãos de um mesmo animal, associadas aos dados apropriados e princípios estatísticos. Em outros casos, pode-se executar um estudo piloto indicando se o procedimento será apropriado para um estudo maior. Para tanto é possível a utilização de estudos preliminares *in vitro*, os quais podem indicar novos caminhos, utilizando técnicas não invasivas.

Substituição

Um sistema experimental que esteja vinculado à totalidade da condição de vida animal, pode ser considerado como substituto alternativo. Pode-se citar a proposta de obtenção de células, tecidos ou organismos para subseqüentes estudos *in vitro* ao invés da matança de animais.

Portanto, verifica-se que alguns métodos alternativos, podem ser utilizados na total substituição em estudos animais e outros, podem complementar dados, auxiliando na redução de utilização de animais empregados em todo projeto. O maior ímpeto de desenvolvimento para testes alternativos tem sido determinado pela indústria farmacêutica. Este investimento tem conduzido para o desenvolvimento adequado da triagem dos componentes para avaliação de potencial toxicológico e eficácia. A utilização da informática, as informações sobre matérias-primas, técnicas físico-químicas, cultura de células, tecidos e órgãos, contribuem para um banco de informações, evitando a duplicação desnecessária de trabalho com animais.

5.1.1 - Critérios a serem avaliados

Os riscos a serem avaliados para ingredientes e produtos cosméticos são do tipo irritativo, alergênico e sistêmico, este último, essencialmente por meio de sua absorção oral ou permeação.

Vários testes desenvolvidos foram aceitos e utilizados na avaliação do risco irritativo. Entretanto, nem todos estão validados até o presente momento, uma vez que os resultados obtidos foram divergentes entre os laboratórios. Baseando-se num banco de dados consistente qualquer pesquisador treinado pode, no entanto, interpretar os resultados obtidos para a comparação entre produtos da mesma categoria. Esses modelos citados, a seguir, só podem ser contemplados como modelos experimentais de “triagem”, ou seja, de caráter preliminar.

Avaliação do potencial de irritação ocular

Através de um conjunto de métodos *in vitro* (HET-CAM, BCOP, Citotoxicidade pela difusão em gel de agarose, Citotoxicidade pelo método do Vermelho Neutro, Citotoxicidade pelo método do MTT, RBC), agrupam-se informações que oferecem subsídios para garantir a segurança do produto a nível ocular. Como há mais de um mecanismo de irritação ocular apenas um ensaio *in vitro* não é suficiente para uma completa avaliação. O ideal é obtermos dados relacionados à vascularização (Het-Cam), opacidade / permeabilização (BCOP) e citotoxicidade (MTT, RBC).

Avaliação do potencial de irritação cutânea

A utilização do teste de corrosividade com modelo de pele reconstituída já é considerado uma metodologia validada. No entanto, este modelo é mais utilizado em ensaios com ingredientes mas, não atende às necessidades de avaliação de produtos acabados.

Avaliação do potencial fototóxico

O teste de fototoxicidade, através da metodologia (3T3 NRU), é definido como uma resposta tóxica clara depois da primeira exposição da célula com agentes químicos, e posterior exposição à irradiação. No que se refere à avaliação do risco alergênico e

fotoalergênico ainda não existem testes *in vitro*, dispondo-se apenas de um teste, que embora não seja considerado como metodologia *in vitro*, contribui na redução do número de animais de laboratório.

Apresentadas as considerações, citamos resumidamente os testes:

5.1.2 - Ensaios *in vitro*

HET-CAM (membrana corioalantóide)

O objetivo do ensaio é avaliar semi-quantitativamente o potencial irritante de um produto (produtos solúveis, emulsões, géis e óleos), sobre a Membrana Cório-Alantóide de ovo embrionado de galinha, no décimo dia de incubação. O ensaio é baseado na observação dos efeitos irritantes (hiperemia, hemorragia e coagulação), após 5 minutos da aplicação do produto, puro ou diluído, sobre a membrana cório-alantóide. Obtém-se uma escala que considera os fenômenos observados.

BCOP (Permeabilidade e opacidade de córnea bovina)

O objetivo do ensaio é avaliar quantitativamente o potencial irritante de um produto ou de uma substância química após aplicação sobre a córnea isolada de bezerro. O ensaio é baseado na medida da opacidade e da permeabilidade da córnea de bezerro após o contato com o produto teste.

Medida da opacificação córnea - realizada com o auxílio de um opacitômetro, aparelho que determina a diferença de transmissão do fluxo luminoso entre a córnea a ser avaliada, fixando um valor numérico de opacidade.

Medida da permeabilidade córnea - realizada conforme o tempo de contato, adicionando fluoresceína e a densidade óptica é medida em 490 nm. Obtém-se uma escala que considera os fenômenos observados.

Citotoxicidade pelo método MTT

A citotoxicidade é avaliada com a ajuda de um corante vital, MTT ou 3-(4,5 dimethyl thiazole-2yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide. Os parâmetros de avaliação observados são a porcentagem de morte celular e a IC₅₀ (concentração do produto que inibe 50% do crescimento celular). Não aplicável a produtos insolúveis em água.

Citotoxicidade pela difusão em gel de agarose

Indicado para emulsões e géis com fase contínua aquosa. Aplicação dos mesmos à superfície de um gel de agarose em contato com células de tecido conjuntivo de

camundongo da linhagem NCTC – clone 929 (ATCC CCL1) onde, a citotoxicidade é avaliada com a ajuda de um corante vital, o MTT ou Vermelho Neutro, observando-se o diâmetro médio do halo de lise celular revelado pela coloração. O halo reflete a citotoxicidade de um produto testado e a sua capacidade em se difundir no gel de agarose.

Citotoxicidade pela método de vermelho neutro (NRU)

Utiliza-se uma cultura de células SIRC CCL 60 ou outras, adicionadas do corante vital vermelho neutro ou MTT. A captação do corante pelas células viáveis é quantificada por espectrofotometria, através de um leitor automático de microplacas. Método empregado para todo tipo de formulação, exceto aquelas que possuam propriedades fixadoras, como as formulações alcoólicas.

RBC - Red Blood Cell System

Este ensaio permite quantificar e avaliar os efeitos adversos dos tensoativos empregados em xampus, sabonetes líquidos e produtos de higiene sobre a membrana plasmática das hemácias e a conseqüente liberação da hemoglobina (hemólise) e ainda, o índice de desnaturação da hemoglobina, avaliado através de sua forma oxidada, ambos quantificados por espectrofotometria. A relação entre a hemólise e oxidação da hemoglobina fornece um parâmetro de caracterização dos efeitos dessas substâncias in vitro.

Teste de corrosividade

O teste de corrosividade consiste em aplicar o produto sobre uma unidade de epiderme humana reconstruída. A viabilidade celular é avaliada pela medida da atividade mitocondrial, através do corante MTT que forma um precipitado azul (formazan) sobre as células viáveis, quantificado por espectrofotometria.

Teste de fototoxicidade

A base deste teste é a comparação da citotoxicidade de um agente químico testado com ou sem exposição adicional a doses não tóxicas de luz UVA. A citotoxicidade é expressa na determinação da dose dependente que reduz o crescimento celular utilizando-se um corante vital, vermelho neutro.

A concentração de um agente químico testado reflete a inibição da viabilidade celular em 50%, calculada usando-se um modelo adequado de curva que expressa a resposta da curva de concentração.

5.1.3 - Ensaios em animais

A experimentação animal tem servido, ao longo de muitos anos, como um meio de se determinar a eficácia e a segurança de diversas substâncias e produtos, em diversas áreas.

A princípio, qualquer animal pode servir à experimentação, entretanto, tem-se procurado utilizar um modelo que apresente melhor resposta a um determinado estímulo, seja por sua maior sensibilidade, facilidade de manejo e evidenciação do efeito ou por sua similaridade anatômica, fisiológica ou metabólica com o Homem.

Na área cosmética, os animais podem ser utilizados para avaliar todos os riscos potenciais envolvidos, seja irritação, alergia ou efeitos sistêmicos a curto e longo prazo.

Os animais de laboratório deverão ser utilizados sempre que não existam métodos alternativos validados que os substituam ou, em casos específicos, após “screening” com métodos *in vitro* e/ou matemáticos válidos, precedendo dessa forma, os estudos clínicos.

Cabe ressaltar que a utilização de animais deve, obrigatoriamente, seguir os preceitos do rigor científico e da ética que norteiam os desenhos experimentais com modelos biológicos, bem como, as normas de bioterismo preconizadas internacionalmente.

Aspectos éticos na realização de ensaios em animais

Atualmente, apesar de todos os esforços para a redução e substituição de animais de laboratório na experimentação biológica, ainda não nos é possível abandonar a utilização desses animais na avaliação da segurança de produtos, nos seus mais diversos aspectos. Entretanto, desde que sejamos obrigados a utilizar animais nos ensaios, devemos zelar para que os mesmos não sofram dores ou vivenciem angústias durante o período experimental.

A caracterização da dor ou desconforto nas diversas espécies animais nem sempre acompanha a realidade humana, dessa forma o experimentador deverá estar bem treinado e, conseqüentemente, familiarizado com os diversos sinais indicativos de sofrimento para a espécie com a qual está trabalhando.

Outro aspecto importante diz respeito às condições ambientais a que são submetidos os animais, variando desde o parâmetro macro (sala, temperatura, umidade, ausência de ruído, ciclo claro-escuro, etc) até o micro (dimensão das caixas/gaiolas, troca de cama, número de animais, etc). Todas as regras básicas de bioterismo e manipulação de animais devem, obrigatoriamente, ser observadas.

Embora pareça paradoxal, o uso de anestésicos nem sempre é recomendado, pois pode interferir com a resposta animal. Porém, parâmetros para a finalização humanitária de experimentos, onde os animais demonstram sinais de angústia e desconforto, devem ser observados. Dessa forma, evita-se o sofrimento desnecessário e já torna

possível uma avaliação do desfecho do teste, com base no conhecimento da evolução do quadro objeto de análise.

De uma forma geral, recomenda-se que os animais de laboratório utilizados em experimentação sejam manuseados dentro dos preceitos éticos preconizados pelos Guias Internacionais, de forma a contribuir para o refinamento dos ensaios e a diminuição do sofrimento a que possam ser submetidos durante a realização de ensaios biológicos.

Teste de Comedogenicidade

Segue a metodologia de Kligman e Fulton em 6 coelhos albinos Nova Zelândia de 2,0 a 3,0 Kg. As amostras são diluídas na proporção de 1,0 a 10,0 g. Efetuam-se 15 aplicações (três semanas com cinco aplicações cada) de 1,0 mL da solução teste na parte interna da orelha direita (esquerda – controle). Leituras diárias e 24 horas após a última aplicação, de eritema, edema e presença ou ausência de comedões.

Teste de irritação dérmica primária e cumulativa

Consiste na aplicação única do produto a ser testado no dorso de coelhos. É aplicado um *patch* oclusivo por 4 horas e, após esse período o produto é retirado. Procede-se a graduação das lesões (eritema e edema), 24 e 72 horas após a aplicação, seguindo a escala de Draize. No caso do ensaio para irritação cumulativa, as aplicações são feitas por um período de 10 dias consecutivos e as graduações são feitas 24 e 72 horas após a última aplicação.

Irritação Ocular Primária

Consiste na aplicação única do produto no saco conjuntival de coelhos, com observações da evolução das lesões em 24, 48, 72 horas e 7 dias após a instilação. São graduadas as alterações de conjuntiva (secreção, hiperemia e quimose), íris (irite) e córnea (densidade e área de opacidade).

Sensibilização Dérmica

São realizadas aplicações tópicas da menor dose não irritante por um período de 3 semanas (fase de indução). Após um período de repouso, procede-se à aplicação tópica da maior dose não irritante (fase de desafio). As reações são graduadas segundo escala específica, com a finalidade de avaliar o potencial de sensibilização. Para ensaios de sensibilização dérmica maximizada, segue-se o mesmo procedimento, porém, com aplicações subcutâneas de adjuvante completo de Freund, para exacerbar a resposta imune.

Determinação da DL₅₀ oral

Visa verificar a toxicidade produzida por uma substância quando administrada por via oral, geralmente forçada, por meio de entubação gástrica (gavage). De uma forma geral, os ensaios se baseiam na contabilidade do percentual de animais que são levados a óbito em determinadas faixas de doses. Recomenda-se, também, observar a ocorrência de sinais e sintomas indicativos de toxicidade (ambulação, piloereção, etc).

Os ensaios de toxicidade aguda estão sendo revistos pelo Comitê Técnico da OECD, no sentido de serem substituídos por avaliações também fidedignas, mas que reduzam o sacrifício ou mesmo o número de animais empregados.

Irritação da mucosa oral

Aplicação do produto na bolsa bucal de hamsters, com lavagem subsequente, durante um determinado período. São feitas observações macroscópicas da mucosa da bolsa e, ao final do ensaio, os animais são sacrificados para exame histopatológico das alterações da mucosa.

Fotoalergenicidade

Os ensaios são feitos em cobaias albinas. Se iniciam com uma fase de indução onde o produto é aplicado de maneira repetida em duas áreas do mesmo flanco dos animais, expondo-se à radiação UVA e UVB, em seguida. Após um período de repouso, procede-se à nova aplicação, em outro flanco, em duas áreas, sendo uma delas o controle, sem exposição à radiação. Após 48 horas, são feitas as observações, comparando-se com a área controle, para confirmar que se trata de uma reação fotoalergênica.

Fototoxicidade

Os ensaios são realizados em cobaias albinas. O produto é aplicado na pele do animal, seguido por exposição à radiação UVA e UVB, sendo uma área, controle. Após 48 horas, são feitas observações macroscópicas e, quando necessário, microscópicas, comparando-se com o controle, sem exposição, para correlacionar uma resposta fototóxica.

Irritação da mucosa genital

São utilizados coelhos albinos machos (irritação de mucosa peniana) ou fêmeas (irritação de mucosa vaginal). O produto é aplicado sobre a mucosa com observações macroscópicas e microscópicas das alterações teciduais. São feitas graduações de forma a determinar o potencial de irritação.

5.2 - Ensaios Clínicos

Produtos cosméticos necessitam de ensaios clínicos em humanos, para que as empresas possam oferecer aos consumidores, o máximo de segurança com o menor risco, garantindo as melhores condições de uso do produto. A partir das informações pré-clínicas coletadas, deve haver a comprovação de segurança de uso por humanos. Estas informações são importantes para determinação do modo e local de uso, advertências de rotulagem e orientações para o serviço de atendimento ao consumidor.

Os ensaios de compatibilidade têm por objetivo comprovar a inocuidade dos produtos em pele humana. São realizados de modo geral com apósitos oclusivos ou semi-oclusivos (patch tests) ou em modelos abertos (open tests). Representam o primeiro contato do produto acabado com um ser humano, e por isso devem seguir premissas de ordem ética (levantamento prévio de dados pré-clínicos segundo Resolução 196/96 do MS) e de boas práticas clínicas. Há várias metodologias e critérios de avaliação na literatura.

Ensaios de Compatibilidade:

Irritação Cutânea Primária e Acumulada

Os ensaios devem contemplar um número mínimo de voluntários (50) com critérios de inclusão e exclusão previamente padronizados. O produto é aplicado de forma aberta, semi-oclusiva ou oclusiva, de acordo com o produto a ser avaliado. A duração do contato e periodicidade das leituras são padronizadas. A interpretação dos resultados deve ser feita considerando o ICDRG (international Contact Dermatitis Research Group). A avaliação deve ser feita por dermatologista.

Fotoirritação

Os ensaios devem ter um mínimo de 25 voluntárias com critérios de exclusão e inclusão previamente definidos. Deve haver uma irradiação no sítio de aplicação localizado no antebraço ou no dorso e a interpretação dos resultados também deverá seguir as normas do ICDRG.

Soap Chamber Test

Este ensaio se destina à avaliação de produtos enxaguáveis com duração de contato e periodicidade previamente padronizados, utilizando-se 15 voluntários com pele sensível. A escala para interpretação das leituras é a de Frosch & Kligman, 1979. A avaliação também deve ser feita por dermatologista.

Comedogenicidade

A avaliação de comedogenicidade deve ser realizada em voluntários negros (fototipos 5 e 6) com aplicação no dorso, de forma padronizada, por um tempo de 28 dias, em no mínimo 5 voluntários, para então se proceder com a biópsia com cola de cianoacrilato e a leitura dos achados em microscopia óptica.

Sensibilização Dérmica

Estes ensaios tem as mesmas premissas de compatibilidade, e deve constar de 3 etapas: Indução, Repouso e Desafio realizado com apósitos oclusivos ou semi-oclusivos, em antebraço ou dorso, em no mínimo 50 voluntários e deve ser realizado, por dermatologista, segundo a escala do ICDRG.

Fotossensibilização

A avaliação de fotossensibilização deve também seguir as 3 etapas para indução de sensibilização, mas deve haver irradiação de luz ultravioleta (faixa A) para avaliar seu papel na indução de alergia. O número mínimo de voluntários é de 25, e os ensaios são sempre oclusivos, podendo ser realizados em dorso ou antebraço. A escala de avaliação segue o ICDRG, e deve ser elaborada por dermatologista.

Ensaio de Aceitabilidade:

Os protocolos de aceitabilidade devem obedecer às condições de uso determinadas pelo fabricante, com critérios de inclusão e exclusão padronizados, onde a única variável é o uso do produto. O número de voluntários deve ser de no mínimo 30, com avaliação dermatológica e conforme o caso, subjetiva.

Pode haver acompanhamento de outro profissional médico de acordo com a categoria de produto (pediatra, ginecologista, oftalmologista, etc.). A duração do ensaio e o número de aplicações poderá variar de acordo com a categoria do produto.

Ensaio de Acnegenicidade e Comedogenicidade em uso

Esta avaliação deve ser realizada em indivíduos de pele oleosa e/ou com tendência a acne, com critérios de exclusão e inclusão padronizados. O uso do produto deve ser padronizado de acordo com as orientações do fabricante. A análise inicial e final das condições da pele deve constar da avaliação clínica, cujos critérios são delineados antecipadamente, assim como a contagem das lesões comedônicas e acneicas.

6 - AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA BASEADO NA SEMELHANÇA DE PRODUTOS

Para ser considerado como semelhante, o produto deve ser da mesma empresa que o produto de referência e correspondente à mesma categoria de produto cosmético. São exemplos específicos de casos de semelhança que podem ser considerados:

- Redução ou eliminação de qualquer ingrediente da formulação;
- Possuir uma base comum e corantes diferentes, desde que estes corantes sejam aceitos legalmente, com exceção das tinturas capilares;
- Mudança de proporção de ingredientes em uma formulação, desde que haja informação toxicológica (banco de dados da própria empresa) para corroborar a segurança do novo produto, excetuando-se fragrâncias, conservantes e tensoativos. Um exemplo desta situação é a proporção de pigmentos em maquilagens.

7 - CRITÉRIOS ÉTICOS NA AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS EM HUMANOS

De acordo com as premissas da legislação brasileira sobre Bioética, todo e qualquer produto, equipamento ou procedimento aplicável em humanos, que esteja sob desenvolvimento deverá seguir os preceitos éticos de forma igual. Assim sendo, produtos cosméticos sob avaliação devem seguir, quando aplicável, as recomendações das Boas Práticas Clínicas (BPC) e, algumas destas medidas são básicas, como por exemplo:

- dados pré-clínicos consistentes que garantam a segurança nas avaliações clínicas;
- termo de consentimento pré-informado;
- infra-estrutura de atendimento médico para o caso de intercorrência;
- cuidados na construção de delineamentos de amostras sob metodologia científica (grupos pequenos demais, delineamentos cujas respostas não serão realmente úteis, etc.).

A avaliação do produto cosmético em humanos não ocorre no sentido de investigar o potencial de risco, mas sim, de confirmar a segurança do produto acabado.

No Brasil, o Conselho Nacional de Saúde, regulamentou as pesquisas envolvendo seres humanos através da Resolução 196/96 e, constituiu a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, responsável, entre outros, pelo registro dos Comitês de Ética em Pesquisa Institucionais. Todos os projetos de pesquisa envolvendo seres humanos devem obedecer às recomendações dessa Resolução.

Para uso de uma nova formulação em humanos, é importante que o fabricante reúna as informações de segurança pertinentes. A Resolução 196/96 prevê que a pesquisa em qualquer área do conhecimento, envolvendo seres humanos deverá observar as seguintes exigências:

- a) ser adequada aos princípios científicos que a justifique e com possibilidades concretas de responder a incertezas;
- b) estar fundamentada na experimentação prévia realizada em laboratórios, animais ou em outros fatos científicos.

Isto significa que os fatos pré-clínicos levantados que garantem a segurança de uso devem ser reunidos previamente às avaliações. Ensaios cujas metodologias não tem validação do ponto de vista científico e seus resultados não trazem nenhum tipo de informação útil, são inaceitáveis.

Vale a pena frisar que os ensaios em humanos não substituem os ensaios em animais.

As avaliações de produtos cosméticos devem também obedecer aos critérios éticos e técnicos das normas de BPC, quando aplicáveis, pois também se tratam de produtos em desenvolvimento, que não devem trazer malefício ou prejuízo ao indivíduo.

Da mesma forma, deve-se considerar que apenas pessoas qualificadas podem conduzir ensaios em humanos, sempre supervisionadas por médico competente no assunto. Gestantes ou mulheres em aleitamento, salvo em indicações específicas, não devem participar destas avaliações. Crianças não devem ser envolvidas em ensaios de compatibilidade. O relatório do estudo deve prover todas as informações para atender aos objetivos, resultados e conclusões.

A comunidade científica brasileira vem desenvolvendo estudos clínicos com maior velocidade na última década; proliferaram estudos, comitês de ética em pesquisa e profissionais atuantes na área.

ANEXOS

- 1 - Metodologia *in vitro*
- 2 - Testes em animais
- 3 - Atributos ligados à segurança

1 - Metodologia *in vitro*

Teste alternativo	Tipo de avaliação	Bibliografia consultada
Het-Cam	Irritação Ocular	52
BCOP	Irritação Ocular	58
Citotoxicidade pela difusão em gel de agarose	Irritação Ocular	53,54,55,56
Citotoxicidade pelo método do Vermelho Neutro	Irritação Ocular	56, 57
Citotoxicidade pelo método do MTT	Irritação Ocular	56, 57
Teste de Corrosividade	Potencial de Irritação Cutânea	2
Teste de Fototoxicidade	Potencial Fototóxico	3

2 - Testes em animais

Teste	Bibliografia consultada
Comedogenicidade	60, 61
Irritabilidade Dérmica Primária	5, 7
Irritabilidade Ocular	6, 7
Irritabilidade Dérmica Cumulativa	5
Sensibilização Dérmica	8, 9
Sensibilização Dérmica Maximizada	8, 9
Foto Irritação Dérmica Primária	59
Foto Irritação Dérmica Cumulativa	59
Fotossensibilização Dérmica Maximizada	22, 42
Fotossensibilização Dérmica não Maximizada	22, 42
Fototoxicidade	22,
Determinação da DL-50 Oral	10, 11
Irritabilidade da Mucosa Oral	7, 51
Irritabilidade da Mucosa Genital	62, 64
Carcinogenicidade	22, 46
Teratogenicidade	22, 46
Teste LLNA	4

3 - Atributos ligados à segurança

Atributo de segurança	Significado/ Comentários	Ensaio recomendado em humanos	Ref. bibliográfica
Dermatologicamente testado	Avaliado em humanos sob controle de médico dermatologista, para verificar potencial de reações cutâneas	Ensaio de compatibilidade cutânea (dependerão da categoria de produto) e/ou ensaios de aceitabilidade cutânea, em condições normais de uso, conduzidos por médico dermatologista	19 21 22
Oftalmologicamente testado	Avaliado em humanos em condições de uso, sob controle de médico oftalmologista para verificar potencial de reações oftálmicas	Ensaio de aceitabilidade, em indivíduos hígidos, analisando-se reações oftálmicas	19 21 22
Clinicamente testado	Avaliado em humanos em condições de uso, sob controle de médico dermatologista e eventualmente de outro especialista para verificar potencial de reações.	Ensaio de aceitabilidade em indivíduos hígidos, analisando-se particularidades dos sítios de uso. Ex: mucosa oral e dentes, por dentista, em produtos de higiene oral; mucosa e pele genital, em produtos de cuidados íntimos, por ginecologista, etc.	19 21 22 41 42
Não comedogênico	Avaliado em humanos para observar o potencial de formar comedões (cravos)	Ensaio oclusivos de contato repetido em indivíduos negros /ou ensaios de uso por 4 semanas, ambos com acompanhamento dermatológico, com monitoramento do número de comedões antes e depois, ou contra um controle	48
Não Acnegênico	Avaliado em humanos para observar o potencial de formar ou piorar espinhas/acne	Ensaio em uso por 3-4 semanas, em indivíduos com predisposição a acne e/ou pele oleosa	41 42

continua na próxima página

continuação do anexo 3 - Atributos ligados à segurança

Atributo de segurança	Significado/ Comentários	Ensaio recomendado em humanos	Ref. bibliográfica
Produto para Pele sensível	Avaliado em indivíduos que apresentem sintomas característicos de um quadro de pele sensível	Ensaio de compatibilidade cutânea e ensaio de uso em indivíduos de pele sensível, de acordo com a conceituação	25 30 42 43
Hipoalergênico	Produto com menor potencial de causar reações alérgicas; o termo não é recomendado pelo FDA pois todo o produto cosmético em tese, não deve ter potencial sensibilizante	Ensaio de compatibilidade cutânea, de sensibilização e fotossensibilização, sem ocorrência de reações.	14 15 31 33 34 35
Produto Infantil	Produto apropriado para uso na pele, cabelos e mucosas infantis, conforme legislação brasileira	Ensaio de compatibilidade cutânea em adultos, e em casos específicos, na sequência, ensaio de aceitabilidade cutânea no público-alvo (regulamentação específica)	16 13

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1) BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Resolução-RDC 79, de 31 de agosto de 2000. Estabelece normas e procedimentos para registro de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e adota a definição de produto cosmético. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 31 ago. 2000, n. 169-E, Seção 1, p. 34.
- 2) ARCHER, G. E. B.; LIEBISCH, M. The ECVAM International Validation Study in vitro for skin corrosivity. **Toxicology *in vitro***. v.12., p.483-524. 1998.
- 3) SPIELMANN, H et al. A study on UV filter chemicals from Annex VIII of European Union Directive 76/768/EEC, in vitro 3T3 NRU phototoxicity test. **ATLA**, v.26, p.679-708, 1998.
- 4) BASKETTER, D. A.; SELBIE, E.; SCHOLLES, E. W.; LEES, D.; KIMBER, I; BOTHAM, P. A.. Results with OECD recommended positive control sensitizers in the maximization. Buehler and local lymph node assays. **Food and Chemical Toxicology**. v.31, p.63-67. 1993.
- 5) DRAIZE, J. H. Appraisal of the safety of chemicals. **Foods, drugs and cosmetics**. p.46-49, OECD 404, 1965.
- 6) KAY, J. H.; CALANDRA, J. C. Interpretation of eye irritation tests. **J. Soc. Cosmet. Chem.**, v.13, p.281-289. 1962.
- 7) DRAIZE, J. H.; WOODARD, G.; CALVERY, H. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membrane. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v.82, p.377-390. 1944.
- 8) BUEHLER, E. V. Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig. **Arch Dermatol.** v.91, p.171-77, 1965.
- 9) MAGNUSSON B, KLIGMANN. A. M. The identification of contact allergens by animal assay. **J. Invest. Dermatol.** v.52, p.268-, 1969.
- 10) OECD Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 420** – Acute oral Toxicity – Fixed dose method. Adopted on July 17, 1992.
- 11) OECD. Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 423** – Acute oral toxicity – Acute toxic class method. Adopted on March 22, 1996.
- 12) OECD Organization for Economic Cooperation and Development Guideline for testing of chemicals. **OECD 425** – Up-and-down procedure. Adopted on September 21, 1998.
- 13) OECD Organization for Economic Cooperation and Development Guideline for testing of chemicals. **OECD 428** – percutaneous absorption with human pig skin. Adopted on December, 2000.

- 14) JACKSON, M. The Science of Cosmetics. **Am. J. of Contact Dermatitis**. v.4, n.2, p.108-110, June, 1993.
- 15) SCHUELLER, R. ROMANOWSKI, P. Understanding “mild” cosmetics products. **Cosmetics & Toiletries**. USA, v.114, n.12, p.55-60, Dec. 1999.
- 16) COLIPA. Scientific Committee on Cosmetology of the Commission of the European Union. Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for their Safety Evaluation - Annex 12: Guidelines on the use of Human volunteers in compatibility testing of finished cosmetic products. p. 87-89. June. 1999.
- 17) COLIPA. The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food Products Intended for Consumers. Notes of Guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation (third revision). June, 1999.
- 18) GERBERICK, G. F.; ROBINSON, M. K.; STOTTS, J. An approach to allergic Contact Sensitization risk assessment of new chemicals and products ingredients. **Contact Dermatitis**, v. 4, n.4, p.205-211, Dec., 1993:
- 19) BASKETTER, D. A.; REYNOLDS, F. S.; YORK, M. Predictive Testing in contact Dermatitis: Irritant Dermatitis. **Clin. Dermatol**. v.15, n.4, p. 637-644, Jul-Aug. 1997.
- 20) KLIGMAN, A. M.; WOODING, W. M. A method for the measurement and evaluation of irritants of human skin. **J. Invest Dermatol**. v.49, p.78-94, 1967.
- 21) MAILBACH, H. I., EPSTEIN, W. L. Predictive patch testing for sensitization and irritation. **Am. Perf. Cosm**. v.80. p.55-56. 1965.
- 22) MAILBACH H I, MARZULLI F N. **Dermatotoxicology**. 5th. Ed. Taylor and Francis Publishers, 1996.
- 23) WALKER, A. P.; BASKETER, D. A.; BAVEREL, M.; DIEMBECK, W.; MATTHIES, W.; MOUGIN, D.; ROTHLISBERGER, R; COROAMA, M. Test Guidelines for the assessment of skin tolerance of potentially irritant cosmetic ingredients in man. **Food and Chemical Toxicology**. v.35, p.1099-1160, 1997.
- 24) European Commission Directorate – DG XXIV Consumer Policy and Consumer Health Protection (1999). Notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation. 3rd rev. June 23th, 1999 by the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Foodstuff Products intended for Consumers (SCCNFP)
- 25) DIEMBECK, W. et al. Test guidelines for the in vitro assessment of dermal absorption and percutaneous penetration of cosmetic ingredients. **Food and Chemical Toxicology**. v.37, p.191-205, 1999.
- 26) AGRUP, G. Sensitization induced by patch testing. **Br. J. Dermatol**. v.80, p.631, 1968.
- 27) BARAN, R.; MAIBACH, H. I. **Cosmetic Dermatology**. Baltimore. Williams & Wilkins, 1994.
- 28) BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas en-

- volvendo seres humanos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, n. 201, 16 out. 1996, Seção 1, p. 21082.
- 29) DOOMS, H.; GOOSSENS, A. Cosmetics as Causes of Allergic Contact Dermatitis. **Cutis**. v.52, p.316-320, 1993.
- 30) DRAIZE, J. H. Predictive patch testing for sensitization and irritation. **Am. Perf.** v.80; p.55, 1965.
- 31) FISHER, A. A. **Contact Dermatitis**, 2nd ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1995.
- 32) KADBEY, K. H. & KLIGMAN, A. M. Photo maximization test for identifying photo allergic contact sensitizers. **Contact Dermatitis**. v.6: p.161-169, 1980.
- 33) KLIGMAN, A. M. & WOODING, W. M. A method for the measurement and evaluation of irritants of human skin. **J. Invest. Derm.** v.49, p.78-94, 1967.
- 34) PATHAK, M. A. Photobiology of Melanin Pigmentations. **J. Am. Acad. Dermatol.** v.9: p.724-733, 1983.
- 35) SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. **Dermatologia Básica**, 2^a edição, São Paulo, Artes Médicas, 2000.
- 36) STORK, H. Photo allergy and photosensitivity. **Arch. Dermatol.** v.91, p.469-482, 1965.
- 37) WILLIS, J.; KLIGMAN, A. M. Diagnosis of photosensitization reactions by the scotch tape provocative patch test. **J. Invest. Derm.** v.51, p.116-119, 1968.
- 38) SHELANSKI, H. A; SHELANSKI, M. V. A new technique of human patch tests. **Proc. Sci. Sec. Toilet. Goods Assoc.** v.19, p.46-49, 1979.
- 39) KAIDBUY, K. H; KLIGMAN, A. M. Identification of topical photosensitizing agents in humans. **J. Invest. Derm.** , v.70, p.149, 1978.
- 40) HERMAN, P. G.; SAMS, W. M. Soap photo dermatitis. 1972.
- 41) SCOTT, C. W et al. Evaluation of the photo toxic potential of topically applied agents using long wave ultraviolet light. **J. Invest. Derm.** v.55, p. 335, 1970.
- 42) WAGGONER, W. C. Clinical safety and efficacy testing of cosmetic. Marcel Dekker, New York, 1979.
- 43) JACKSON, E. M; ROBILLARD, N. F. The controlled use test in a Cosmetic Product safety substation program. **J. Toxicol. Cut. & Ocular Toxicol.** v.1. n.2, p. 117-132, 1982
- 44) MOSKONITZ, H. R. Cosmetic Product Testing: a modern psychophysical approach. In: Marcel Dekker, New York, 1984.
- 45) ZATZ, J. L. Aumento da penetração cutânea. *Cosmetics & Toiletries*, v.7;p.52-58, 1995.
- 46) AMDUR, M. O.; DOULL, J.; KLAASSEN, C. D. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 4th Ed., Pergamon Press, 1991.

- 47) FROSCH, P. J., KLIGMAN, A. M. The soap chamber test: a new method for assessing the irritancy of soaps. **J. Am. Acad. Dermatology**, v.1, p.35-41, 1979.
- 48) ZATULOVE, A.; KONNERTH, N. A. Comedogenicity testing of cosmetics. **Cutis**, v.39, n.6, p.521-, 1987.
- 49) OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation, ENV/JM/MONO(2000)7
- 50) CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. Normas sobre: La selección del punto final apropiado en experimentos en que se utilizan animales para investigación científica, enseñanza y pruebas de laboratorio. 1998.
- 51) CTFA - Cosmetics Toiletries and Fragrance Association - Safety Testing Guidelines. Ed. Anita S. Curry, Stephen D. Gettings and G. N. McEwen. 1991.
- 52) SPIELMANN H.; LIEBSCH, M. M.; MOLDNHAVER, F.; HOLZHUTTER, H. G.; BAGLEY, D. M.; LIPMAN, J. M.; PAPE, W. J. W.; MILTENBURGER, H.; DE SILVA, O.; HOFER, H.; STEILING, W. CAM based assays. **Food Chemical Toxicology**, v. 35, p. 39-66. 1997.
- 53) WALLIN, R. F.; HUME, R. D.; JACKSON, E. M. The agarose diffusion method for ocular irritancy screening cosmetic products, part I. **J. Toxicol. Cut & Ocular Toxicol**, v. 6, n.4, p. 239-250. 1987.
- 54) UNITED STATES PHARMACOPEIA, 25 ed. Rockville: United States-Pharmacopeia Convention, p. 1893-1895, 2002.
- 55) COMBRIER, E. and CASTELL, D. The agarose overlay method as a screening approach for ocular irritancy application to cosmetic products. **ATLA**, v. 20, p. 438-444. 1992.
- 56) HARBELL, J. W.; KOONTZ, S. W.; LEWIS, S. R. W., LOVELL, D. and ACOSTA, D. Cell cytotoxicity assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 35, p. 79-126. 1997.
- 57) BORENFREUND, E.; BABICH, H. and MARTÍN ALGUACIL, N. Comparisons of two in vitro cytotoxicity assay the Neutral Red (NR) and Tetrazolium MTT tests. **Toxicology in vitro**, v. 2, p. 1-6, 1998.
- 58) CHAMBERLAIN, M.; GAS, S.C.; GAUTHERON, P.; PRINSEN, M.K. Organotypic models for the assessment/prediction of ocular irritation. **Food Chem. Toxicol.**, v. 35, p. 23-37, 1997.
- 59) GUILLOT, J. P.; GONNET, J. F.; LOQUERIE, J. F.; MARTIN, M. C.; COUVERT, P.; COTTE, J. A new method for the assessment of phototoxic and photoallergic potentials by topical applications in the albino guinea pig. **J. Toxicol. Cut & Ocular toxicol.**, v. 4, p. 117-134, 1985.
- 60) FULTON, J. E.; PAY, S. R.; FULTON, J. E. Comedogenicity of current therapeutic products, cosmetics and ingredients in the rabbit ear. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 10, p. 96, 1984.

- 61) KLIGMAN, A. M.; KWONG, T. An improved rabbit ear model for assessing comedogenic substances. **Br. J. Dermatol.**, v. 100, p. 699-702, 1979.
- 62) MINSKY, M.; WILLIGAN, D. A. pH and the potential irritancy of douche formulations to the vaginal mucosa of the albino rabbit and rat. **Food Chem. Tox.**, v. 20, p. 193, 1982.
- 63) MAIBACH, H. I. Animals models in dermatology. Churchill Livingstone, New York, 1975.
- 64) ECKESTEIN, P.; JACKSON, M. C. N.; MILLMAN, N.; SOBRERO, A. J. Comparison of vaginal tolerance tests of spermicidal preparations in rabbits and monkeys. **J. Reprod. Fert.**, v. 20, p. 85-93, 1969.

www.anvisa.gov.br

apoio:



Agência Nacional
de Vigilância Sanitária



**MINISTÉRIO
DA SAÚDE**