DIAMANÍ GOMES SOARES FELISBINO

TESTES TOXICOLÓGICOS PARA COSMÉTICOS SEM O USO DE ANIMAIS:

CRUELTY FREE

Guarulhos
2018

DIAMANÍ GOMES SOARES FELISBINO

TESTES TOXICOLÓGICOS PARA COSMÉTICOS SEM O USO DE ANIMAIS:

CRUELTY FREE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Anhanguera de Guarulhos, como requisito parcial para a obtenção do título de graduado em Biomedicina.

Orientadora: Msc. Giovanna Crippa.

Guarulhos
2018

DIAMANÍ GOMES SOARES FELISBINO

TESTES TOXICOLÓGICOS PARA COSMÉTICOS SEM O USO DE ANIMAIS:

CRUELTY FREE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Anhanguera de Guarulhos, como requisito parcial para a obtenção do título de graduado em Biomedicina.

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Titulação Nome do Professor(a)

Prof(a). Titulação Nome do Professor(a)

Prof(a). Titulação Nome do Professor(a)

Guarulhos, 10 de Dezembro de 2018.

Dedico este trabalho à Deus, pois a ele seja dada toda Honra e Glória desde o início dessa caminha até o fim de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois claramente nada seria possível sem Ele. A minha família e amigos que contribuíram dando suporte e incentivo em cada decisão e dificuldade.

Agradeço aos professores por todo conhecimento compartilhado, por todas experiências e por cada dia de paciência em nos auxiliar em nossas dificuldades. Por fim agradeço a coordenação e a instituição que se dedicou em fazer o melhor para que a caminhada de cada aluno fosse a melhor possível.

FELISBINO, Diamaní Gomes Soares. **Testes toxicológicos para cosméticos sem o uso de animais**: Cruelty Free. 2018. 31. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Anhanguera de Guarulhos, Guarulhos, 2018.

RESUMO

Os cosméticos não são produtos causadores de grande danos à saúde, porém podem ter riscos, dessa maneira são admitidos testes que quantifiquem e qualifiquem um produto para que esse possa ser comercializado. Dessa madeira há nos laboratórios uma variada gama de métodos que proporcionam os resultado necessários, dentre esses é possível observar métodos que são realizados em a animais e testes que não são realizados animais. Com a constante preocupação em melhorar as condições de vida dos animais houve um crescimento significativo na indústria em aderir a teste sem crueldade ao animal, dessa maneira foi necessário garantir que esses testes também possuem validade e segurança em seus resultados. Comercialmente para as empresas é viável investir nos métodos alternativos pois esses apresentam segurança e economia, todavia ainda não é possível substituir todos os testes por métodos sem animais, mas com os avanços tecnológicos essa realidade pode não estar tão distante.

Palavras-chave: Cosméticos; Segurança; Animais; Toxicidade; Testes; Riscos; Saúde; Qualidade; Eficácia.

FELISBINO, Diamaní Gomes Soares. **Toxicological tests for cosmetics without the use of animals**: Cruelty Free. 2018. 31. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Anhanguera de Guarulhos, Guarulhos, 2018.

ABSTRACT

Cosmetics are not products that cause great damage to health, but they can be risky, so that tests are admitted that quantify and qualify a product so that it can be marketed. From this wood there are a variety of methods in the laboratories that provide the necessary results, among which it is possible to observe methods that are carried out in animals and tests that are not performed animals. With the constant concern to improve the living conditions of the animals there was a significant growth in the industry in adhering to the test without cruelty to the animal, so it was necessary to ensure that these tests also have validity and safety in their results. Commercially it is feasible to invest in alternative methods because they have safety and economy, but it is not yet possible to replace all tests by non-animal methods, but with technological advances this reality may not be so distant.

***Key-words*:** Cosmetics; Safety; Animals; Toxicity; Tests; Risks; Helth; Quality; Efficiency.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Novos métodos para avaliação de segurança aprovados pelo CONCEA 22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
CONCEA	Concelho Nacional de Controle de Experimentação Animal
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos
OECD	Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13
2. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS 15
2.1. COSMÉTICOS GRAU I E GRAU II 15
2.2. TIPOS DE RISCOS 15
2.3. CRITÉRIOS NA AVALIAÇÃO DE COSMÉTICOS 16
2.3.1 CONDIÇÕES DE USO 17
2.3.2 COMPOSIÇÃO DO PRODUTO 17
2.3.3 HISTÓRICO E CONHECIMENTO DO PRODUTO 17
2.4. AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DOS INGREDIENTES 17
2.5. EXPERIEMENTAÇÃO IN VIVO E IN VITRO 17
2.5.1. EXPERIMENTAÇÃO IN VIVO 18
2.5.2. EXPERIMENTAÇÃO IN VITRO 18
2.6. MÉTODOS ALTERNATIVOS VALIDOS 19
2.7. MÉTODOS ALTERNATIVOS VALIDADOS 19
3. MÉTODOS ALTERNATIVOS ACEITOS NO BRASIL 20
3.1. MÉTODOS PARA AVALIAR O POTENCIAL DE IRRITAÇÃO E CORROSÃO DA PELE 20
3.2. ABSORÇÃO CUTÂNEA 22
3.3. SENSIBILIZAÇÃO CUTÂNEA 22
3.4. FOTOTOXICIDADE 22
3.5. GENOTOXICIDADE 23
4. BENEFICIOS DOS TESTE ALTERNATIVOS 24
4.1. PRINCÍPIO 3R'S 24
4.2. SELO CRUELTY FREE 25
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS 26
REFERÊNCIAS 27

1. INTRODUÇÃO

A indústria cosmética sempre buscou trazer segurança e eficiência comprovada para seus produtos, até mesmo porque todo ser humano direta ou indiretamente faz uso de cosméticos diariamente, porém para conseguir tais comprovações em seus produtos por anos foram utilizados teste de toxicidade em animais.

Com essa pratica várias objeções foram levantadas ao longo do tempo, primeiramente o sofrimento dos animais submetidos aos testes, muitas vezes dolorosos, ou até lesões irreversíveis como cegueira, comprometimento no crescimento dos pelos e afins. Outro ponto também observado é em relação aos custos e normas laboratoriais, tendo em vista que laboratórios que fazem testes em animais precisam de um controle de qualidade mais apurado, equipamentos específicos, espaço e acondicionamento apropriado para que tais teste tenham veracidade.

Assim as indústrias viram a necessidade de reduzir o uso de animais em teste ou até mesmo encerrar tais tipos de testes para agradar ao público que hoje se preocupa muito mais com essas questões, paralelo a isso, reduzir gastos, antes muito mais altos para o acondicionamento de tais animais. É possível observar que atualmente há industrias que além que não fazer testes em animais, também não utilizam seus subprodutos, provando que é possível manter qualidade e segurança sem causar danos em animais. Então por qual motivo muitas empresas ainda não adotaram tais práticas?

Vendo esse novo posicionamento do mercado buscou-se verificar como algumas indústrias que apresentam a opção de não utilizar animais em testes, conseguem garantir a segurança e qualidade aos consumidores. A seguir, como objetivos específicos, é necessário pontuar e limitar o caminho a ser percorrido para atingir o objetivo supracitado, inicialmente: saber quais os possíveis riscos à saúde, bem como normas e legislações que são necessárias para que um produto possa chegar ao comercio, conhecer os testes toxicológicos exigidos pelos órgãos reguladores, e por último, demonstrar a eficácia, a eficiência e os benefícios a indústria em aderir aos testes sem o uso de animais.

Para elaborar esse trabalho foi realizado um estudo qualitativo, através da revisão de artigos científicos e obras bibliográficas nacionais e internacionais entre os anos de 1994 a 2017 abordando o tema de *Cruelty Free* em produtos cosméticos, ou

seja, produtos cosméticos que não são testados em animais. A pesquisa foi realizada através da plataforma de pesquisa denominada “Google Acadêmico”, onde foram coletados os artigos científicos, também referencias em livros e um enfoque aos documentos e guias disponibilizados e utilizados pela ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária, os termos utilizados para a pesquisa: teste toxicológicos para cosméticos, testes sem o uso de animais, produtos livres de crueldade animal, desta forma foram utilizados 8 (oito) artigos e 10 (dez) materiais de apoio.

2. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS

Quando há algum produto sendo comercializado em um supermercado ou farmácia, todos os consumidores têm ciência que houve uma fase de estudos e experimentações para que aquele produto pudesse ser comercializado, sobretudo nos procedimentos cosméticos que afinal entram em contato direto com a pele. Porem há vários tipos de cosméticos e cada um com seu critério de avaliação pois cada um possui uma ação no organismo.

2. 1. COSMÉTICOS GRAU I E GRAU II

Existem vários tipos de produtos na indústria cosmética, os produtos que promovem algum tipo de tratamento e/ou proteção e os que apenas tem o poder de cobrir, camuflar ou colorir. Entre os produtos cosméticos há uma classificação segundo a ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária) em duas partes: cosméticos grau I, são produtos que possuem propriedades básicas, aquelas que não precisam de comprovação inicial e não precisam de maiores informações sobre seu modo de usar e restrições, produtos como esmaltes, perfumes e cremes desde que seja sem fator de proteção solar; cosméticos Grau II, são produtos que possuem indicações especificas e também necessitam de comprovação de segurança ou eficácia, possuem restrições e modo de uso, produtos como cremes anti-idade e antiacne, xampu anticaspa, maquiagem e produtos com fator de proteção solar.

Fez-se essa classificação pois com o uso inadequado dos produtos pode ocorrer efeitos indesejados, os cosméticos grau I apenas são notificados, já os de grau II é obrigatório a apresentação de documentação para análise. Porem em ambos os casos há substâncias químicas na composição e para cada componente há uma quantidade permitida pela ANVISA, afinal como qualquer agente mesmo que externo os cosméticos podem gerar resíduos ou subprodutos prejudiciais à saúde (ANVISA, 2008).

2.2. TIPOS DE RISCOS

Os cosméticos normalmente não apresentam grandes possibilidade de danos à saúde do indivíduo, exceto em casos de alérgicos ou na má utilização do produto,

porem eventualmente danos, por mais que menores, podem indicar riscos tendo em vista que cosmético são administrados diariamente.

Reações mais comuns são: irritação, processo inflamatório decorrente somente na área de contato com o produto, podendo ter vários níveis de intensidade; sensibilidade, processo inflamatório mais envolvido como o sistema imunológico, normalmente observado após um tempo de uso do produto, podendo aparecer em outra área diferente da região de foi aplicado o produto, nesse caso a sensibilidade pode ser decorrente de um componente especifico ou por uma interação produzindo um outro componente (a irritação e a sensibilidade se assemelham bastante ao observar clinicamente, porém na sensibilização o indivíduo em toda exposição ao componente terá reação); sensação de desconforto são sintomas subclínicas adversos de uma irritação, coceira, ardência, entre outros; efeitos sistêmicos quando componentes ultrapassam as barreiras da pele e atingem o sistema circulatório, podendo causa riscos sistêmicos.

2.3. CRITÉRIOS NA AVALIAÇÃO DE COSMÉTICOS

Inicialmente cabe ao fabricante se certificar da seguridade de seu produto para que esse possa ser comercializado. É sabido que não há a ausência de riscos porem é necessário estabelecer uma condição razoável que possa reduzir tais riscos bem como diminuir danos graves.

A maior parte dos danos podem ser previsto mediante os componentes contidos em sua formulação, porem além de apenas os produtos isolados, também deve haver preocupação com os produtos misturados formando um produto, pois um componente pode potencializar outro bem como interagir e resultar em um outro componente.

Para avaliar um cosmético cada caso dever ser observado especificamente, as variáveis que podem ocorrer entre as informações contidas em uso normal e previsto e os possíveis erros ou ocorridos. Normalmente os cosméticos são de uso tópico, ou seja, não ultrapassam a barreira cutânea, porem em eventuais casos, alguns ingredientes podem ultrapassar tais barreiras sendo inalados ou engolidos, por exemplo, como no caso de sprays para cabelo, enxaguatório bucal. Assim, três parâmetros devem ser considerados: condições de uso, composição do produto e histórico e conhecimento do produto.

2.3.1 Condições de uso

Condições de uso, englobam tudo que deve e não deve ser feito com o produto em questão, como aplicar, quanto aplicar, por quanto tempo, advertências de uso, bem como erros previsíveis, enfim testar a veracidade de todas as informações que virão a ser contidas no frasco e/ou embalagem. É importante também evidenciar o consumidor alvo de cada tipo de produto, pois por exemplo, produtos para idosos e crianças são ainda mais rigorosos em testes e informações pois esse público é mais sensível e suscetível a acidentes.

2.3.2 Composição do produto

O que cada produto contém e a quantidade de cada componente, são medidas preventivas para que não ocorram determinadas reações já conhecidas. Evidenciar produtos que são de fácil sensibilidade, e também a toxicidade de cada componente.

2.3.3 Histórico e conhecimento do produto

Estudar o que já se tem de informações e casos de toxicidade de cada produto, para evitar possíveis contaminações ou reações, sejam eles dados coletados durante a confecção do mesmo ou semelhantes, dados experimentais, literaturas confiáveis de valor cientifico.

2.4. AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DOS INGREDIENTES

Os ingredientes utilizados em cosméticos podem ser de diversas origens sintéticos, naturais, biotecnológicos ou até biológicos. Observando a vasta diversidade de ingredientes tais substancias são rigorosamente estudadas para possibilitar segurança na formulação do produto em conjunto com os outros ingredientes. O produto cosmético deve apresentar uma “margem de segurança”, ou seja, o produto deve ser seguro em suas condições normais e também deve ser seguro em suas utilizações previsíveis, sendo que cada ingrediente incorporado obrigatoriamente precisa estar num nível de concentração dentro dessa “margem”. (ANVISA, 2012).

2.5. EXPERIEMENTAÇÃO IN VIVO E IN VITRO

Caso não seja possível prever os danos devido ao uso do produto, é possível avaliar através da formula e/ou pelos ingredientes contidos individualmente, porém se ainda não é suficientemente nítido quantificar e avaliar possíveis danos, assim é preciso recorrer a métodos experimentais *in vivo* ou *in vitro* (ANVISA, 2012)

2.5.1. Experimentação *in vivo*

Há muitos anos os testes *in vivo*, ou seja, os teste feitos em animais tem surtido eficácia apresentando segurança e qualidade no que são submetidos. De modo geral qualquer animal e de qualquer espécie pode ser utilizado na experimentação, porem ao longo da pratica observou-se que determinados animais apresentam melhores resultados no quesito tamanho, anatomia e mansidão, por isso atualmente é possível observar que os animais mais utilizados são coelhos, camundongos, cachorros e macacos. Os animais devem ser submetidos a experimentação somente em casos onde não seja possível utilizar métodos *in vitro*.

É importante salientar que nos testes *in vivo* deve-se seguir rigorosamente princípios de ética, normas de bioterismo (normas de criação, manutenção e cuidados de higiene de viveiros para animais utilizados como cobaias), afim de diminuir o sofrimento e alterações nos resultados (PRESGRAVE, 2009). Apesar desses cuidados conforme Gaverick Matheny, entre 50 e 100 milhões de animais são mortos em testes científicos, todos os anos, nos Estados Unidos e na União Europeia - número que pode ser muito maior do que se contabiliza, em razão da ocultação de dados.

Os testes experimentais *in vivo* apresentam muitas críticas pela sociedade, sobretudo durante os últimos anos com o crescimento de pessoas adeptas a práticas veganas e vegetarianas, nesse âmbito há uma maior pressão sob a indústria que ainda pratica experimentação animal, porem essa pratica ainda é amplamente utilizada. Contudo é sempre necessário seguir o uso ético dos animais de acordo com a Lei 11.794/2008 e ainda assim todos os experimentos envolvendo animais, passa por uma Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA. (BRASIL, 2008). Nos cosméticos é possível verificar riscos como irritação, alergias ou efeitos sistêmicos, para isso, os testes exigidos variam de acordo com a utilização de cada produto.

2.5.2. Experimentação *in vitro*

Em substituição aos testes em animais os teste *in vitro* foram criados e com os avanços tecnológicos até mesmo é possível fazer testes toxicológicos, porem por se tratarem de testes que avaliam sistemas mais complexos, há ainda uma grande dificuldade de garantir um resultado, desta forma em alguns casos é necessário complementar os resultados *in vitro* com resultados *in vivo.*

Para que um método alternativo possa ser adotado oficialmente, ele precisa passar por estudos colaborativos internacionais (validação) e ser publicado em compêndios oficiais (aceitação regulatória). Isto faz com que a substituição completa de animais ainda não seja possível (ICCVAM, 1997; OECD, 2005). Assim os métodos considerados alternativos podem ser divididos em: métodos alternativos validos e métodos alternativos validados.

2.6. MÉTODOS ALTERNATIVOS VALIDOS

São aqueles testes que não necessariamente passaram por um processo de validação, porem são testes considerados validos levando em consideração a quantidade de dados já existentes que comprovam a sua seguridade e relevância como um teste competente.

2.7. MÉTODOS ALTERNATIVOS VALIDADOS

São aqueles testes que obrigatoriamente passaram por um processo de validação determinado por órgão reguladores oficiais internacionais (OECD – Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento, FDA - Administração de Alimentos e Medicamentos, etc), assim assumem o mesmo status da ANVISA. (ANVISA, 2012).

3. MÉTODOS ALTERNATIVOS ACEITOS NO BRASIL

Em setembro de 2014 o CONCEA (Concelho Nacional de Controle de Experimentação Animal) na Resolução Normativa n° 17/2014, legalizou 17 testes alternativos, afim de diminuir a crueldade animal e aplicar o programa 3R's. A resolução determina que os estabelecimentos substituam obrigatoriamente seus métodos antigos e apliquem os novos métodos dentro do prazo de cinco anos, conforme os testes apresentados na Figura 1 (LANG, 2014).

Figura 1 – Novos métodos para avaliação de segurança aprovados pelo CONCEA

	Método OECD TG			
Avaliação do potencial de irritação e corrosão da pele	430 – Corrosão dérmica *in vitro* : Teste de Resistência Elétrica Transcutânea	431 – Corrosão dérmica *in vitro* : teste da Epiderme Humana Reconstituída	435 – Teste de Membranade Barreira *in vitro*	439 – Teste de irritação Cutânea *in vitro*
Avaliação do potencial de irritação e corrosão ocular	437 – Teste de Permeabilidade e Opacidade de Córnea Bovina	438 – teste de Olho Isolado de Galinha	460 – teste de Permeação de Fluoresceína	
Avaliação do potencial de fototoxicidade	432 – teste de Fototoxicidade in vitro 3T3 NRU			
Avaliação da absorção cutânea	428 – Absorção Cutânea método *in vitro*			
Avaliação do potencial de sensibilização cutânea	429 – Sensibilização Cutânea: Ensaio do Linfonodo Local	442a e 442b – Versões não radioativas do Ensaio do Linfonodo Local		
Avaliação de toxicidade aguda	420 – Toxicidade Aguda Oral – Procedimento de Doses Fixas	423 – Toxicidade Aguda Oral – Classe Tóxica Aguda	425 – Toxicidade Aguda Oral – procedimento "Up and Down"	129 – estimativa da dose inicial para teste de toxicidade aguda oral sistêmica
Avaliação de genotoxicidade	487 – Teste do Micronúcleo em Célula de Mamífero *in vitro*			

FONTE: CONCEA, 2014.

Os métodos OECD TG respeitam normativas internacionais, os novos métodos propostos têm como objetivo ou encerrar com a experimentação animal ou diminuir a quantidade de repetições ou ainda reduzir o sofrimento animal, todas visando melhorias tanto éticas com o tratamento animal bem como financeira com a redução de custos antes necessário com os tais animais.

3.1. MÉTODOS PARA AVALIAR O POTENCIAL DE IRRITAÇÃO E CORROSÃO DA PELE

Irritação dérmica trata-se de um evento conceituado como irreversível, como a necrose, ou reversível, como edemas, ressecamento e descamação, causado a pele, essa irritação é resultado de uma resposta inflamatória, decorrente da exposição da pele há alguma substancia toxica. Também denominada como dermatite de contato, pode-se apresentar de duas formas: cumulativa crônica, se desenvolve com após repetidas exposições; irritante aguda, ocorre em apena um exposição a substancia. (LURATI, 2015). Para avaliar o potencial de irritação e corrosão da pele as técnicas a seguir são as técnicas que não utilizam animais em nenhuma das fazes de experimentação, validadas atualmente.

OECD TG 431 - Corrosão cutânea *in vitro*: ensaio com epiderme humana reconstituída (RHE) – o método consiste em expor uma RHE (conjunto de queratinócitos dispostos em camadas formando uma estrutura semelhante a pele humana) a um substancia pesquisada e quantificar a sua capacidade de penetração a camada estrato córnea do tecido, também se são toxicas para as camadas ao redor. Após a exposição a substância as células são coradas e visualizadas através da técnica de espectrofotometria para observar a absorbância obtida (OECD TG 431).

OECD TG 435 - Corrosão cutânea *in vitro*: ensaio com membrana de barreira – o método é feito através da utilização de uma membrana artificial, essa membrana é dividida em duas camadas, a primeira camada de gel aquoso proteico e a segunda uma membrana de celulose coberta por um gel de colágeno. A primeira camada é impermeável a sólidos e líquidos porem quando exposta a alguma substância com potencial de corrosão essa camada se degrada e a substância chega a segunda camada que tem o papel de suportar e servir de barreira para a primeira. O resultado é expresso de acordo com a observação de danos causados a primeira barreira (OECD TG 435).

OECD TG 439 - Irritação dérmica *in vitro*: ensaio com epiderme humana reconstituída (RHE) – no ensaio realizado in vitro não é possível observar a formação completa da cascata inflamatória, porém é possível verificar se a cascata foi iniciada e dessa forma é possível quantificar utilizando a técnica dita na OECD 431 com a coloração e observação da absorbância em espectrofotometria. A RHE é exposta a substância e assim que é absorvida e chega a camada estrato córneo é possível coletar uma amostra das células expostas e visualizar analisando a viabilidade de tais células assim sendo possível notar se a cascata foi ou não iniciada e com qual intensidade (OECD TG 439).

3.2. ABSORÇÃO CUTÂNEA

A pele, através da epiderme e seus anexos é capaz de absorver substancias, a maioria dos produtos de cunho tópico penetram somente a epiderme e neste caso o produto é eliminado pela própria pele durante a descamação, porem há alguns produtos mais específicos que conseguem penetrar mais profundamente e atingir a epiderme podendo entrar em contato com a circulação sistêmica do organismo. Dessa forma é necessário determinar a absorção das substancias prevenido riscos sistêmicos. A técnica apresentada a seguir é o método alternativo que não utiliza animais em nenhuma das fazes de experimentação, validado para verificar a absorção cutânea.

OECD 428 - Absorção cutânea: método in vitro – realizado com pele extraída de humano ou de mamífero, e com células preparadas de forma que cada célula possua duas câmaras, uma doadora e uma receptora essa contém um fluido receptor que representa o fluxo sanguíneo periférico. A câmara receptora fica embaixo da pele e a doadora por cima, dessa maneira durante a exposição é possível notar de que maneira a pele se comporta e se a sustância chega a camada mais profunda, em alguns casos é colocado marcadores radioativos no fluido receptor a fim de atrair substancias especificas. O método é observado durante um período de 24h, após esse tempo todas as câmaras são analisadas assim quantificando como adequado ou não o poder de absorção da substância (OECD TG 428).

3.3. SENSIBILIZAÇÃO CUTÂNEA

A sensibilidade cutânea é o potencial da pele em apresentar irritação sobretudo em particular a dermatite de contato alérgica, a sensibilização cutânea tem o papel de quantificar o risco que uma substância tem de apresentar reações alérgicas. Há quatro testes validados, conforme a tabela descrita acima, todos eles apresentam melhorias no tratamento dos animais bem como na quantidade de animais experimentado, porém ainda não é possível quantificar a sensibilização cutânea sem o uso de animais em testes (ANVISA, 2012)

3.4. FOTOTOXICIDADE

Fototoxicidade é a resposta de uma substancia toxica aplicada na pele sendo provocada ou aumentada com exposição a luz. Há varias substancias que tem essa propriedade relatada, a característica mais comum é a capacidade de absorver a energia da luz dentro da faixa de luz solar. No Brasil há somente um teste validado para fototoxicidade e esse teste não é experimentado em animais (SPIELMANN, et a*l.,* 1994).

OECD TG 432 – Teste de Fototoxicidade in vitro 3T3 NRU – avalia a fototoxicidade pela redução da viabilidade de células exposta a luz. O método é o resultado da comparação da citotoxicidade de uma substância testada com e sem exposição solar. O resultado é expresso através da redução de retenção de um corante denominado Neutral red esse corante é catiônico que penetra rapidamente na membrana celular e fica depositado nos lisossomos das células dessa maneira se houver fragilidade nas membranas lisossomais ocorrerá uma diminuição na retenção do corante, dessa forma é possível diferencia células saudáveis de células lesadas ou mortas (OECD TG 432).

3.5. GENOTOXICIDADE

Algumas substâncias apresentam efeitos tóxicos ao material genético, essa mutação pode se tornar carcinogênica, afinal sabe-se que a maioria dos agentes cancerígenos também são genotóxicos. Esses agentes podem causar alterações cromossômicas, causando efeitos irreversíveis. Atualmente há apenas um método capaz de avaliar a genotoxicidade das substancias e esse teste é livre de crueldade animal. (WAHNSCHAFFE, U. et al., 2005).

OECD TG 487 – Teste do micronúcleo em célula de mamífero – são utilizados linfócitos de origem humana ou de roedores. Micronúcleo são estruturas originadas a partir dos cromossomos que são capazes de migrar para as extremidades das células durante a fase de divisão celular, tal método uma base para detectar cromossomos danificados.

4. BENEFÍCIOS DOS TESTES ALTERNATIVOS

É percebido que nos últimos anos o número de consumidores interessados em conhecer mais sobre a origem dos produtos que consomem, vendo essa motivação do consumidor a indústria também se viu na necessidade de buscar formas de melhor atender a esse público assim como obter benefícios de novas práticas na produção.

Mesmo as metodologias *in vitro* representando uma ótima opção para as pesquisas na área toxicológica e poderão vir a substituir um número considerável de métodos in vivo hoje limitados, há de se considerar que o processo de desenvolvimento e validação de novos métodos alternativos é minucioso e requer grande investimento. Alguns países criaram centros de pesquisa para o desenvolvimento e validação de metodologias alternativas ao uso de animais.

Esses métodos alternativos apresentam muitas vantagens, dentre tais de destacam: questões éticas (não utilizando animais, não causando dor, evitando o sofrimento de seres vivos); resultados mais rápidos (teste *in vitro* apresentam resultados mais rápidos, e/ou podem até ser acelerados se preciso for); resultados mais precisos (*in vivo* há muitas variáveis, ração, acondicionamento, animal testado, questões genéticas e hereditárias de cada animal, entre outras); menor custo (sem gastos para o acondicionamento adequado do animal, cumprimento de normas internas além das já exigidas para a fabricação do produto); maior facilidade de disseminação para outros laboratórios (nem todos os laboratórios apresentam condições para teste in vivo, mas para teste *in vitro* há menos exigências infraestruturais).

Os testes toxicológicos realizados 100% *in vitro* ainda são uma utopia, porém com o crescente aumento de políticas em defesa dos animais, com isso órgão de regulamentação e de controle da qualidade tem investido tempo e dinheiro para que ocorram mudanças nesse cenário, afinal manter a segurança em insumos para a saúde é questão e saúde pública. (ABREU et al., 2008).

4.1. PRINCÍPIO 3R’s

O princípio dos 3Rs, é um conceito definido por William Russell e Rex Burch, em 1959, no livro *Principles of Humane Experimental Technique*, tal o princípio é definido como refinamento, redução e substituição (do inglês – *Refinement, Reduction*

e Replacement). Tal medida tem como estratégia desenvolver pesquisas racionais para que o uso de animais em experimentações seja cada vez menor até que por fim tais testes sejam encerrados.

A ideia de criar métodos alternativos muito mais eficientes e capazes de abranger todos os critérios necessários para o desenvolvimento de um produto está incluso no princípio dos 3Rs: refinamento – diminuir a severidade dos processos, dor e stress dos animais; redução – reduzir o número de animais; substituição – no caso a substituição de experimentos que utilizam animais por outro que não utilizam (PRESGRAVE, 2009).

4.2. SELO CRUELTY FREE

A *International Organization for Standardization* criou os selos ecológicos/verdes, por meio desses sistemas de rotulagem a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) sugeriu a criação do primeiro selo verde no Brasil em 1990, porem somente em 1993 surgiu o Programa de Rotulagem Ambiental. Isso demonstra o quanto essa pratica é nova no Brasil, hoje em dia os selos *Cruelty Free* estão inseridos com os selos de ambientais. Porem internacionalmente há um selo criado pela organização não governamental *People for the Ethical Treatment of Animals* que tem como objetivo conscientizar a população sobre produtos que são e os que não são experimentados em animais.

O primeiro país a criar leis para regulamentar a utilização de animais como cobaias foi o Reino Unido em 1876. No Brasil tal atitude só se deu após a criação do CONCEA, por meio da Lei nº 11.794, criada em 2008, com a intenção de padronizar os procedimentos realizados em animais não-humanos com finalidade científica, embora ainda se pretenda a implementação de princípios universais. Em 2011, foi criado o BraCVAM, criado pela ANVISA e pelo INCQS (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde), o primeiro centro de validação de métodos alternativos com o objetivo de diminuir os testes em animais.

Ainda não há selos que sejam de fato aceito e regulamentado internacionalmente que certifique que algum produto ou indústria não faça uso de experimentação animal, porem com a constante discussão acerca do assunto muitas empresas colocam pequenos avisos em seus rótulos já notificando tal pratica, tendo em vista que em breve possa se tornar obrigatoriedade (MICHAEL, 2017).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o material estudado foi visto quo o cenário atual nos métodos utilizados para analisar teste toxicológicos em cosméticos tem mudado, tanto pela influência dos consumidores bem como pela influência dos órgãos reguladores que refinam as normatizações de acordo com necessidade. Dessa forma, foi possível observar que os cosméticos apesar de não oferecerem, de uma maneira geral, danos graves podem apresentar riscos à saúde como alergias, edemas e coceira. Ao levar em consideração que os cosméticos são utilizados diariamente, por todo tipo e faixa etária, logo esses danos mesmo que aparentemente leves podem ser agravados de acordo com o uso. Com isso, a ANVISA determina que uma série de testes sejam feitos para que esses produtos possam oferecer o mínimo de risco possível.

Os testes exigidos são no geral, testes que quantificam o potencial alérgico das substâncias utilizadas. Os métodos são variados e apresentam diversas formas de chegar a resultados satisfatórios, dentro desses há os testes que são feitos *in vitro* e *in vivo.* Com o constante avanço da tecnologia é possível observar que os teste *in vitro* são hoje ótimas opções alternativas para teste antes somente feitos em animais

Sobretudo os testes *in vivo* ainda não podem ser completamente substituídos, mas a preocupação com o bem estar dos animais, a economia financeira, a facilidade, rapidez e eficácia dos testes já utilizados apresenta um grande atrativo para as indústrias promovendo mais pesquisas e aumentando a utilização de testes alternativos.

REFERÊNCIAS

ABREU, C.; PRESGRAVE, O.; DELGADO, I.; Metodologias Alternativas à Experimentação Animal: Aplicação no Controle da Qualidade de Produtos sujeitos à Ação da Vigilância Sanitária. **Revista CFMV - Brasília/DF - Ano XIV** - Nº 45 – p 15. 23, 2008.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos.** 2012. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Guia+para+Avalia%C3%A7%C3%A3o+de+Seguran%C3%A7a+de+Produtos+Cosm%C3%A9ticos/ab0c660d-3a8c-4698-853a-096501c1dc7c>. Acesso em: 15 Set. 2018.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regularização de Produtos – Cosméticos** - **Lista de substâncias**. 2008. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/cosmeticos/produtos/lista-de-substancias>. Acesso em: 15 Set. 2018.

BRASIL. Lei n. 11.794, de 08 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII de parágrafo 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei n. 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, de 09 de outubro de 2008, Brasília, Brasil: República Federativa do Brasil.

ICCVAM - Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods. **Validation and regulatory acceptance of toxicological test methods:** a report of the ad hoc Interagency Coordinating Committee of Alternative Methods. 1997. Disponível em: < http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/about_docs/validate.pdf >. Acesso em: 19 out. 2018.

LANG, P. Métodos inovadores. **Revista de Manguinhos.** Instituto Oswaldo Cruz. p. 25-31, dez. 2014.

LURATI, A.R. **Occupational Risk Assessment and Irritant Contact Dermatitis.** Workplace HealtH & Safety, Florida, v.63, p. 81-87, 2015.

MATHENY, Gaverick. **Utilitarism and Animals**. In: SINGER, Peter (ed.) Defense of Animals The Second Wave. Oxford: Blackwell Publishing, 2006.

MICHAEL, F. V. VARGAS. R. Y. Direito Ambiental – O direito do consumidor à informação e o panorama atual dos selos cruelty free no brasil. **Revista RBDA, Salvador/BA.** Nº01. P 155. 200, 2017.

PRESGRAVE, O. A. F. Métodos alternativos. In: Lapchik, V. B. V.; Mattaraia, V. G. M.; Ko, G. M. (Org.). **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório.** São Paulo: Atheneu, 2009.

SPIELMANN, H., et al. **In vitro phototoxicity testing: The report and recommendations of ECVAM.** Workshop 2. ATLA, v. 22, p. 314-348, 1994.

OECD (2004), **Test No. 428:** Skin Absorption: In Vitro Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264071087-en. Acesso em: 23 out. 2018.

OECD (2016), **Test No. 431:** In vitro skin corrosion: reconstructed human epidermis (RHE) test method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264264618-en. Acesso em: 19 out. 2018.

OECD (2004), **Test No. 432**: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264071162-en. Acesso em: 23 out. 2018.

OECD (2015), **Test No. 435:** In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242791-en. Acesso em: 19 out. 2018.

OECD (2015), **Test No. 439:** In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242845-en. Acesso em: 19 out. 2018.

OECD (2016), **Test No. 487:** In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264264861-en. Acesso em: 23 out. 2018.

WAHNSCHAFFE, U. et al. Mutagenicity testing with transgenic mice. Part I: Comparison with the mouse bone marrow micronucleus test. **Journal of Carcinogenesis.** v.4, p. 1-14, 2005.