



---

# Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos

---

**2ª Edição**

**Agência Nacional de Vigilância Sanitária | Anvisa**

**Agência Nacional de Vigilância Sanitária | Anvisa**

---

# Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos

---

**2ª Edição**  
**Brasília**  
2012

Copyright © 2012. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa)

2ª Edição

**Presidenta da República**

Dilma Rousseff

**Ministro da Saúde**

Alexandre Padilha

**Diretor-presidente**

Dirceu Brás Aparecido Barbano

**Adjunto do Diretor-Presidente**

Luiz Roberto da Silva Klassmann

**Diretores**

José Agenor Álvares da Silva

Jaime César de Moura Oliveira

**Adjuntos**

Neilton Araújo de Oliveira

Luciana Shimizu Takara

**Chefe de Gabinete**

Vera Maria Borralho Bacelar

### **Gerente Geral de Cosméticos**

Josineire Melo Costa Sallum

### **Técnicos da Gerência Geral de cosméticos**

Christiane da Silva Coelho

Mariana Denardin Klein

Renata Patrícia de Abreu Fernandes

### **Grupo de Trabalho**

Carla Regina Câmara Barrichello - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (Abihpec)

Dermeval de Carvalho - Associação Brasileira de Cosmetologia (ABC)

Flavia Alvim Sant'Anna Addor - Laboratório Privado

Idalina Maria Nunes Salgado Reis dos Santos - Laboratório Privado

Octávio Augusto França Presgrave – Laboratório Oficial

Philippe Masson- Laboratório Privado

Samuel dos Santos Guerra Filho- Laboratório Privado

### **Colaboradores ad-hoc**

Maria Vitória Lopes Badra Bentley - Universidade de São Paulo (USP)

Paulo Sergio Lopes de Oliveira - Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração (InCor) HC - FMUSP

Pedro Edson Moreira Guimarães- Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração (InCor) HC - FMUSP

Renata Amaral - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (Abihpec)

Sandra Medina - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (Abihpec)

Vanessa Melo Silva - Laboratório Privado

### **Capa, projeto gráfico e diagramação**

Camila Medeiros (Uncom/Ascec/Anvisa)



---

Guia para Avaliação de  
Segurança de Produtos  
Cosméticos

---

# Sumário

<b>Introdução</b> .....	<b>9</b>
<b>Considerações gerais na avaliação de segurança de produtos cosméticos</b> .....	<b>10</b>
Risco cosmético .....	11
Critérios a serem observados na avaliação de segurança do produto cosmético .....	12
<b>Avaliação toxicológica dos ingredientes a serem utilizados em formulações cosméticas</b> .....	<b>15</b>
Caracterização .....	15
Aplicação cosmética .....	16
Dados toxicológicos .....	16
Margem de segurança .....	19
Modelos <i>in silico</i> para avaliação toxicológica de ingredientes .....	22
Outras informações disponíveis sobre os ingredientes .....	23
<b>Ensaio pré-clínicos</b> .....	<b>23</b>
Os 3 Rs .....	24
Métodos válidos e validados .....	25
Experimentação animal .....	26

Metodologias <i>in vivo</i> .....	27
Ensaio <i>in vitro</i> .....	31
<b>Ensaio clínico</b> .....	<b>36</b>
Estudos de compatibilidade .....	37
Estudos de aceitabilidade .....	40
<b>Avaliação de segurança baseada na semelhança de produtos</b> .....	<b>42</b>
<b>Ética e boas práticas clínicas na avaliação de segurança de produtos cosméticos em humanos</b> .....	<b>47</b>
<b>Cosmetovigilância</b> .....	<b>48</b>
<b>Anexo I: Modelo de relatório para ensaios pré-clínicos</b> .....	<b>50</b>
<b>Anexo II: Métodos com aceitação regulatória</b> .....	<b>52</b>
<b>Anexo III: Modelo de relatório para ensaios clínicos</b> .....	<b>52</b>
<b>Anexo IV: Atributos de segurança</b> .....	<b>54</b>
<b>Ensaio para públicos específicos</b> .....	<b>56</b>
<b>Definições e terminologia</b> .....	<b>56</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>59</b>





## Introdução

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária- Anvisa, em consonância com a sua missão de *“promover e proteger a saúde da população e intervir nos riscos decorrentes da produção e do uso de produtos e serviços sujeitos à vigilância sanitária, em ação coordenada com os estados, os municípios e o Distrito Federal, de acordo com os princípios do Sistema Único de Saúde, para a melhoria da qualidade de vida da população brasileira”*, por meio da Gerência Geral de Cosméticos, coordenou um grupo de trabalho constituído por pesquisadores, representantes do setor produtivo e Laboratórios Oficiais, para revisão do **“Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos”**, que teve sua primeira publicação no ano de 2003. Este Guia, de caráter orientativo, tem como objetivo sugerir critérios para avaliação de segurança dos produtos cosméticos e fornecer os subsídios para este fim, não limitando as empresas de apresentarem alternativas de avaliações de segurança (BRASIL, 1976; BRASIL, 1977; BRASIL, 1999; BRASIL, 2003; BRASIL, 2007).

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 no ato da regularização do produto, onde a mesma declara possuir dados comprobatórios que atestam a sua eficácia e segurança.

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 busca dessa segurança deve incorporar permanentemente o avanço do estado da arte da ciência cosmética.

Com o objetivo de facilitar a leitura deste guia, a expressão “Produtos Cosméticos, de Higiene Pessoal e Perfumes” será substituída pela expressão “produtos cosméticos” abrangendo assim, toda a classe designada anteriormente.

## 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 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) formular o produto com ingredientes referenciados, conforme estabelecido nas RDC 211/05 e Portaria 295/98 e suas atualizações, e reconhecidamente seguros (BRASIL, 2005a; BRASIL, 1998);
- b) obter dados de segurança dos produtos acabados;
- c) seguir as Boas Práticas de Fabricação e Controle, conforme estabelecido na Portaria 348/97 e suas atualizações (BRASIL, 1997);
- d) fornecer informações ao consumidor, da maneira mais clara possível, a fim de evitar o uso inadequado do produto;
- e) avaliar as reações ocasionadas por produtos cosméticos disponíveis no mercado, utilizando-se das ferramentas da Cosmetovigilância (BRASIL, 2005b);

Em razão da grande complexidade que envolve parâmetros relacionados à avaliação do risco, algumas considerações se tornam necessárias:

**Perigo:** propriedade intrínseca de um ingrediente. É o potencial de causar um dano, sem relação com a dosagem ou a exposição.

**Dano:** é a lesão ou reação causada pelo ingrediente ou associação de ingredientes de um produto.

**Risco:** é a probabilidade de ocorrência do dano, em função do nível de exposição.

A avaliação da segurança está baseada na avaliação do risco e deve considerar os parâmetros toxicológicos dos ingredientes com base em dados atualizados, observadas as condições de uso do produto cosmético e o perfil do consumidor alvo (ROGIERS; PAUWELS, 2008).

## Risco cosmético

Risco Cosmético é a probabilidade de ocorrência de uma das reações descritas abaixo:

- **Irritação:** Processo inflamatório que ocorre na área de contato com o produto, podendo ocorrer após a primeira aplicação (irritação primária) ou com a continuidade do uso (irritação acumulada). É determinada por um dano tecidual agudo ou crônico de intensidade variada. É dependente da concentração dos ingredientes no produto final, da formulação como um todo, quantidade aplicada, frequência e modo de aplicação (SAMPALIO & RIVITTI, 2007).
- **Sensibilização:** Processo inflamatório que envolve mecanismo imunológico, do tipo celular, com tempo de contato variável, de alguns dias ou mesmo alguns anos, até que o organismo reconheça um ou mais ingredientes como alergênico. Em geral, é uma resposta que não ocorre nas primeiras

aplicações, a não ser que o indivíduo já se encontre sensibilizado a um dos ingredientes do produto, podendo aparecer em outra área, diferente da área de aplicação. O processo alérgico pode decorrer tanto em função dos ingredientes isolados, quanto da interação entre eles no produto, formando novo componente (SAMPAIO; RIVITTI, 2007).

As respostas de irritação e sensibilização do ponto de vista clínico são semelhantes, caracterizadas pela ocorrência de um ou mais dos seguintes sinais clínicos: eritema, edema, pápula e pústula. Diferenciam-se pelo fato da irritação ser dose dependente, enquanto que a sensibilização não: o indivíduo uma vez sensibilizado desenvolverá a reação a toda exposição ao(s) ingrediente(s) (SAMPAIO; RIVITTI, 2007).

- **Sensações de desconforto:** são reações comuns a cosméticos, caracterizadas por sintomas subclínicos que podem sinalizar uma irritação: ardência, prurido/coceira, dor, pinicação, etc (SAMPAIO; RIVITTI, 2007).

- **Efeito sistêmico:** Resulta da passagem de quaisquer ingredientes do produto, para a corrente circulatória, independentemente da via de aplicação. O risco sistêmico é avaliado a partir dos dados relativos aos ingredientes (CASARETT; KLAASSEN; DOULL, 2008).

## Critérios a serem observados na avaliação de segurança do produto cosmético

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, ser os responsáveis por qualquer efeito local e sistêmico. Contudo, a fórmula do produto acabado também pode interferir, à medida que facilita a absorção total ou parcial dos ingredientes. Além disso, as possíveis interações, resultantes da associação entre os ingredientes, podem influenciar no risco potencial de um produto.

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.

Embora os produtos cosméticos sejam aplicados topicamente, um ou mais de seus ingredientes podem permear a barreira cutânea, enquanto que outros, devido à sua apresentação e modo de uso, podem ser ingeridos ou inalados, como por exemplo, os dentifrícios, enxaguatórios bucais e spray para cabelos. Portanto, devem-se considerar, em todos os casos, os seguintes parâmetros (BETTON, 2007):

### *Condições de uso:*

1. **Grupo de produto e finalidade de uso;**
2. **Quantidade de produto por aplicação;**
3. **Modo de aplicação;**
4. **Tempo de contato;**
5. **Consumidor alvo;**
6. **Advertências e restrições de uso;**
7. **Condições previsíveis de uso e uso inadequado;**
8. **Frequência de uso:**
  - Aplicação regular e prolongada, como por exemplo, os produtos para cuidados pessoais (desodorantes, hidratantes corporais, etc);
  - Aplicação ocasional, geralmente produtos com função específica (tintura capilar, depilatório, esfoliantes, etc);
  - Aplicação regular, durante um tempo limitado de contato, de acordo com a frequência de uso, como no caso dos produtos enxaguáveis (xampus, sabonetes, etc).
9. **Área e superfície de aplicação;**
  - Aplicação em áreas específicas e limitadas, por exemplo, perfumes, esmaltes e outros;

- Aplicação extensa sobre a pele, como os produtos para cuidado do corpo;
- Aplicação sobre mucosas (cavidade oral, órgãos genitais externos), como por exemplo, batom, dentifrícios, sabonetes íntimos, etc;
- Aplicação na área dos olhos (sombrias, delineadores, cremes, etc);
- Aplicação no cabelo, com ou sem enxágue (xampus, condicionadores, tinturas capilares, etc).

### *Composição do produto:*

- Fórmula quali-quantitativa;
- Existência de restrições ou regulamentações específicas dos ingredientes;
- Dados toxicológicos dos ingredientes;
- Possíveis interações entre ingredientes (ex: alteração na permeabilidade cutânea, geração de subprodutos, etc);
- Nível de exposição;
- Avaliação/Cálculo da Margem de segurança para os ingredientes, em casos específicos.

### *Histórico e conhecimento do produto:*

- Dados disponíveis sobre o próprio produto e/ou sobre produtos semelhantes, incluindo dados de Cosmetovigilância;
- Dados experimentais existentes sobre o próprio produto e/ou sobre produtos semelhantes, em relação à avaliação de risco;
- Literaturas de reconhecido valor científico: revistas especializadas, órgãos regulatórios, entidades do setor privado e entidades afins;
- Resultados de testes de segurança e de pesquisas complementares próprias da empresa.

# Avaliação toxicológica dos ingredientes a serem utilizados em formulações cosméticas

Os ingredientes cosméticos podem ser sintéticos, naturais, produtos de biotecnologia ou associação de ingredientes, como por exemplo, as fragrâncias. A avaliação de segurança desses ingredientes, à semelhança de outras substâncias químicas, deve seguir rigoroso delineamento científico para fornecer bases técnicas adequadas para formulação de produtos seguros.

Os parâmetros a serem contemplados na avaliação da segurança são:

## Caracterização

É necessária a disponibilização dos seguintes dados, para qualquer ingrediente (BRASIL, 1998):

- Nome comercial;
- Nomenclatura INCI (*International Nomenclature Cosmetic Ingredient*), quando houver;
- Número CAS (*Chemical Abstracts Service*) ou EINECS (*European Inventory of Existing Chemical Substances*), quando houver;
- Especificações físico-químicas (incluindo determinação de impurezas), microbiológicas e de estabilidade;
- Método de identificação;
- Restrição de uso;
- Condições particulares de estocagem e manuseio.



## Aplicação cosmética

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

## Dados toxicológicos

A avaliação de toxicidade de um ingrediente cosmético está intimamente relacionada à natureza físico-química do ingrediente e à metodologia de avaliação utilizada (via de administração, tempo e frequência de exposição, entre outros). Por esta razão, guardadas as respectivas particularidades de cada ingrediente, o SCCNFP- *Scientific Committee on Cosmetics and Non Food Products*, anteriormente designado como *Scientific Committee on Consumer Products* (SCCP) e, atualmente, designado como *Scientific Committee on Consumer Safety* (SCCS) tem indicado a realização dos seguintes ensaios pré-clínicos:

- Toxicidade sistêmica aguda;
- Corrosividade e irritação dérmica;
- Sensibilização cutânea;
- Absorção/penetração cutânea;
- Doses repetidas;
- Mutagenicidade/genotoxicidade;
- Toxicidade subaguda e subcrônica;
- Irritação ocular;
- Irritação de mucosas;
- Efeitos tóxicos induzidos pela radiação UV (fototoxicidade, genotoxicidade, fotoalergia);
- Carcinogenicidade;
- Toxicidade do desenvolvimento e reprodutiva (teratogenicidade);
- Toxicocinética e Toxicodinâmica.

Segundo o *Guidance for the testing of cosmetic ingredients* (SCCS, 2010), os seis primeiros testes têm sido considerados os ensaios toxicológicos mínimos, ficando os demais sujeitos à avaliação.

A avaliação dos efeitos sistêmicos constitui uma das primeiras etapas na avaliação de segurança de ingredientes cosméticos. Entretanto, deve ficar esclarecido que a sua utilização está sujeita a uma série de parâmetros interativos e, sobretudo, sólidos e robustos conhecimentos de Toxicologia.

A toxicocinética pode ser usada para descrever o caminho do ingrediente após alcançar a corrente circulatória. A determinação dos parâmetros farmacocinéticos é definida através de modelos matemáticos onde são utilizadas informações relativas à absorção, distribuição, metabolização e excreção. O estudo farmacocinético é importante, pois permite inferir se os danos ocasionados à custa de ingredientes cosméticos que ocorreram *per se* são resultantes de um processo de biotransformação. Embora a literatura para a determinação de parâmetros farmacocinéticos seja vastíssima, o método OECD 417 deverá ser utilizado uma vez que já está validado.

O termo toxicodinâmica representa o processo de interação de um ingrediente cosmético com os sítios alvos, podendo resultar possíveis efeitos adversos.

Dados do SCCNFP e SCCP descrevem os fundamentos dos testes destinados à avaliação da toxicidade sistêmica de ingredientes cosméticos e suas respectivas bibliografias (SCCP, 2006).

- Absorção/penetração cutânea in vitro - OECD 428
- Carcinogenicidade - teste de carcinogenicidade - OECD 452 e EC B. 30
- Carcinogenicidade/toxicidade crônica combinada - OECD 453 e EC B. 33
- Irritação cutânea - OECD 404 e EC B.4
- Irritação de membranas mucosas - OECD 405 e EC B.5
- Mutagenicidade - teste de mutação bacteriana reversa (teste de Ames) - OECD 471 e EC B.13/14

- Mutagenicidade - teste de aberração cromossômica em células humanas – OECD 473 e EC B.10
- Mutagenicidade - teste de mutação genética de células de mamíferos - OECD 476 e EC B.17
- Teratogenicidade - roedores e não roedores - OECD 414 e EC B.31
- Toxicidade aguda - doses fixas - OECD 420 e EC B.1 bis
- Toxicidade aguda - determinação da faixa exposição - OECD 423 e EC B.tris
- Toxicidade aguda - procedimento “*up and down*” - OECD 425
- Toxicidade crônica - OECD 452 e EC B. 30
- Toxicidade dérmica - DR\* - 28 dias - OECD 410 e EC B.9
- Toxicidade inalatória - DR - 28 dias - OECD 412 e EC B.8
- Toxicidade oral - DR - 28 dias - OECD 407 e EC B.7
- Toxicidade subcrônica - dérmica - roedores - DR - 90 dias - OECD 411 e EC B. 28
- Toxicidade subcrônica - oral - não roedores - DR - 90 dias - OECD 409 e EC B. 27
- Toxicidade subcrônica - oral - roedores - DR - 90 dias - OECD 408 e EC B. 26
- Toxicidade subcrônica -inalatória - roedores- DR - 90 dias - OECD 413 e EC B.29
- Toxicocinética - OECD 417 e EC B. 36
- Toxicologia desenvolvimental e reprodutiva - toxicidade para duas gerações - OECD 416 e EC B.35

\* DR - Dose Repetida

## Margem de segurança

O produto cosmético deve ser seguro para o usuário nas condições normais ou razoavelmente previsíveis de 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/*margin of safety* (MS) é definida como a relação entre a dose experimental mais elevada que não produz qualquer efeito sistêmico adverso (NOAEL – *Non observed adverse effect level/nenhum efeito adverso observado*) e a dose diária absorvida (SED – *Systemic Exposure Dose/Dose de Exposição Sistêmica*), a qual o usuário pode ser exposto por via cutânea:

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

O NOAEL representa a maior dose da substância administrada em um estudo de toxicidade subcrônico (doses repetidas de 30, 60 e 90 dias) em que não se observa nenhum efeito adverso nos animais de experimentação. Esta informação deve ser obtida diretamente com o fornecedor da matéria-prima, através dos dados toxicológicos da mesma, ou ainda nos bancos de dados de informações toxicológicas da substância.

A SED representa a dose diária absorvida, que para a área cosmética e dermatológica, refere-se à estimativa de absorção pela pele, quando do contato com a substância. A dose diária absorvida pode ser calculada de duas maneiras, de acordo com os dados disponíveis.

$$1) \quad \text{SED (mg/Kg)} = \frac{\text{PA } (\mu\text{g/cm}^2) \times \text{S (cm}^2) \times \text{F}}{60 \text{ Kg} \times 1000}$$

Onde:

**PA (*Percutaneous Absorption*/Absorção Percutânea):** informação obtida de acordo com dados toxicológicos fornecidos por estudos de permeação da matéria-prima. No caso de ausência desta informação, deve considerar-se como a absorção total da substância pela pele.

**S (*Surface*/superfície):** É a estimativa da superfície total da pele (em área) na qual haverá contato com a matéria-prima.

**60 kg:** Corresponde ao peso médio de um adulto normal. Esse dado poderá ser readequado conforme a característica da população a que se destina o produto. Ex: bebês.

**1000:** É um valor constante e corresponde ao fator de correção de variação intra e inter espécies (10 x 10 x 10).

**F (*Frequency*/Frequência):** corresponde ao número de aplicações diárias.

Ou ainda:

$$2) \quad \text{SED (mg/Kg)} = \frac{A (\%) \times I (\text{mg}) \times 1000}{60 \text{ Kg}}$$

Onde:

**A (*Absorption*/Absorção):** informação em porcentagem obtida de acordo com dados toxicológicos fornecidos por estudos de permeação para a matéria-prima. No caso de ausência desta informação deve considerar-se como permeação total da substância, ou seja, 100%.

**I (*Ingredient*/Ingrediente):** quantidade estimada de matéria-prima que entrará em contato com a pele. Este cálculo, por sua vez, leva em conta:

- a concentração da matéria-prima no produto final;
- a quantidade estimada de uso do produto final, em cada aplicação pelo consumidor, de acordo com modo de uso e área total;
- o número total de aplicações diárias preconizadas para o produto final.

Na avaliação da margem de segurança de ingredientes cosméticos a serem aplicados em pele íntegra e também para os destinados ao público infantil, o valor obtido 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 de algumas substâncias que apresentem efeitos na reprodução (PAUWELS; ROGIERS, 2004; SCCP, 2006).

## Modelos *in silico* para avaliação toxicológica de ingredientes

A avaliação de toxicidade de um ingrediente cosmético está relacionada a algumas de suas propriedades físico-químicas, dentre elas: estrutura química e molecular, massa molecular, solubilidade e coeficiente de partição. A interação química da molécula com as estruturas biológicas pode ser avaliada através de modelos matemáticos, genericamente designados *in silico*, tais como SAR (*structure-activity relationship* - relação estrutura-atividade) e QSAR (*quantitative structure activity relationship* - relação quantitativa estrutura-atividade (PRATIM ROY et al., 2009)). Entende-se por um modelo *in silico* aquele que, baseado em um conjunto de dados experimentais, gera um modelo matemático que reflete os resultados previamente obtidos e auxilia na extrapolação dos mesmos na predição computacional de respostas ou estados de outros sistemas. No caso de ingredientes cosméticos, esses modelos alternativos podem auxiliar na pré-seleção de matérias-primas pela identificação de substâncias com diferentes níveis de segurança (DE GROOT; McMURRY; MOISE, 2008) e consequentemente diminuir custos, já que pode identificar ativos com alto grau de toxicidade e eliminá-los do desenvolvimento do produto. Os modelos hoje validados em animais e em modelos *in vitro* extrapolam os dados gerados para o esperado em humanos, sendo assim um modelo preditivo. São estes dados experimentais que alimentam as equações matemáticas nos modelos *in silico*. Os resultados obtidos com modelos *in silico* devem, portanto, ser avaliados com muita cautela já que realizam predições baseadas em predições, pois os protocolos-base validados *per se* são predições dos modelos *in vivo* (VALERIO, 2009).

Apesar dos estudos já realizados, atualmente a compreensão acerca do assunto ainda é restrita e decorre da limitação dos modelos computacionais ainda disponíveis. Essas ferramentas estão em fase de desenvolvimento e validação (VALERIO, 2009) e sua utilização deve ser exercida por um profissional capacitado, não sendo de forma alguma seu uso trivial. A interpretação dos resultados deve ser feita com muita cautela, não podendo substituir modelos *in vitro* e/ou *in vivo*.

## Outras informações disponíveis sobre os ingredientes

Agências governamentais americanas, integradas à instituição denominada *Inter-Agency Testing Committee* (ITC), já contam com importantes setores regulatórios que estão trabalhando na avaliação da relação da estrutura atividade, a saber: *Environmental Protection Agency*, *Food and Drug Administration*, *National Cancer Institute*, *National Toxicology Program* e *National Institute for Occupational Safety and Health*.

Os fornecedores de ingredientes constituem fonte de informação. No entanto, dados também poderão ser obtidos através de literatura científica, bancos de dados, órgãos regulatórios e institucionais: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), *Food Drug Administration* (FDA), *Scientific Committee on Consumer Safety* (SCCS), *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD), *U.S. Environmental Protection Agency* (EPA), *European Chemicals Bureau* (ECB), *The European Cosmetics Association* (COLIPA), *Personal Care Products Council* (PCPC), *Cosmetic Ingredient Review* (CIR), *International Fragrance Association* (IFRA), entre outros. É importante observar que deve ser respeitada a legislação de cada país onde o produto será comercializado.

## Ensaio pré-clínicos

Caso não haja risco previsível decorrente do uso do produto, pode-se avaliar a fórmula *per se* 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 deve-se recorrer, segundo o nível de conhecimento, a métodos experimentais, *in vitro* ou *in vivo*.

É recomendado que os relatórios dos ensaios pré-clínicos contenham as informações do modelo constante do anexo I.



## Os 3 Rs

O princípio dos 3Rs está baseado no conceito definido por William Russell e Rex Burch, em 1959, no livro *Principles of Humane Experimental Technique*, representando o refinamento, redução e substituição (Refinement, Reduction e Replacement). Tem 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 (RUSSEL; BURCH, 1959). A ideia 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 (BALLS, 2009; PRESGRAVE, 2009).

### *Refinamento*

O termo refinamento tem sido empregado para descrever a modificação de algum procedimento operacional com animais, objetivando minimizar a 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 disso, é importante que toda a equipe envolvida seja bem treinada e competente no que se refere à 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.

## Substituição

Qualquer método científico que empregue material não senciente em substituição ao uso de animais vertebrados vivos. Pode-se citar a proposta de obtenção de células, tecidos ou organismos para subsequentes estudos *in vitro* ao invés do sacrifício de animais.

## Métodos válidos e validados

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).

Os métodos alternativos podem ser divididos em:

**Métodos alternativos válidos:** são técnicas que não necessariamente tenham passado pelo processo completo de validação, mas para as quais existe quantidade de dados suficientes provando sua relevância e confiabilidade (PAUWELS; ROGIERS, 2004).

**Métodos alternativos validados:** são os métodos para os quais a relevância e confiabilidade estão estabelecidas para um propósito particular de acordo com critérios determinados por órgãos oficiais (PAUWELS; ROGIERS, 2004).

Conforme Decreto 6.899/09, que regulamenta a Lei 11.794/2008, os métodos alternativos são “procedimentos validados e internacionalmente aceitos que garantam resultados semelhantes e com reprodutibilidade para atingir, sempre que possível, a mesma meta dos procedimentos substituídos por metodologias que: não utilizem animais; usem espécies de ordens inferiores; empreguem menor número de animais; utilizem sistemas orgânicos *ex vivos*; ou diminuam ou eliminem o desconforto” (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009a).

A validação e aceitação regulatória de novos métodos são dinâmicas, portanto, recomenda-se uma consulta periódica da situação dos diversos ensaios. À medida que os métodos sejam validados e obtenham aceitação regulatória por órgãos oficiais (OECD, FDA, etc.), esses assumem o mesmo *status* perante a Anvisa. Os dados obtidos a partir de métodos que não apresentem tal *status*, apesar de não possuírem aceitação regulatória, podem servir como evidência e informação complementar para avaliação de segurança.

Os métodos com aceitação regulatória e a sua respectiva referência no Guia de Teste da OECD estão relacionados no anexo II.

## Experimentação animal

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 evidenciado efeito ou por sua semelhança anatômica, fisiológica ou metabólica com o homem. 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 validados, precedendo, dessa forma, os estudos clínicos (PRESGRAVE, 2009).

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, 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. A não observância dessas condições

pode comprometer os resultados dos estudos (CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 1998; LAPCHIK; MATTARAIA, 2009).

Diversos documentos têm sido publicados no sentido de orientar o manuseio de animais de experimentação: no Canadá, o *Canadian Council on Animal Care* publicou o *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*; nos Estados Unidos, o *Animal Welfare Act* e a emenda 7 USC, 2131-2156; na Europa, as Diretivas 86/609/EC e 2003/65/EC regulamentam o uso científico de animais. No Brasil, o assunto é regulamentado pela Lei 11.794/2008 (BRASIL, 2008).

Apesar de contestados, os métodos em animais ainda vêm sendo amplamente utilizados em diversas áreas, incluindo pesquisa básica, avaliação de toxicidade para diferentes finalidades, controle de qualidade, entre outras. Entretanto, para que estes ensaios sejam realizados, diversos aspectos devem ser considerados, incluindo os que envolvem o uso ético destes animais e, de acordo com a Lei 11.794/2008, os experimentos envolvendo animais devem ser aprovados por uma Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009a).

Na área cosmética, os animais podem ser utilizados para avaliar os riscos potenciais envolvidos, seja irritação, alergia ou efeitos sistêmicos a curto e longo prazo (PAUWELS; ROGIERS, 2004).

## Metodologias *in vivo*

### ♦ Toxicidade aguda oral:

#### ❖ Método de Doses Fixas

Normalmente são utilizados 5 animais de um único sexo por cada nível de dose (5, 50, 300 e 2000 mg/kg, excepcionalmente, pode-se usar 5000 mg/kg), por meio de gavagem. A dose inicial é usada a partir de observações prévias, onde é usada a dose que causa ligeiros sinais de toxicidade, sem causar efeitos severos ou morte. Os grupos (de doses)

subsequentes são administrados em função da presença ou ausência de sinais de toxicidade, dessa forma, aumentando ou diminuindo para o nível imediatamente próximo. Os animais devem passar por observações de peso (pelo menos uma vez por semana) e sinais de toxicidade (monitoramento diário, no mínimo por 14 dias), além de necrópsia.

#### ❖ **Método Up-and-Down**

O teste principal é realizado após o teste limite, que servirá de base para as doses a serem utilizadas. Para a determinação da toxicidade aguda oral, um animal é administrado por gavagem. Após 48 horas, outro animal é administrado usando-se uma dose superior ou inferior (com fator 3.2), em função da mortalidade. Os critérios para a interrupção do ensaio são determinados de forma a manter o menor número de animais possível para a determinação da toxicidade. Um tratamento adequado dos resultados é aplicado para fornecer a conclusão final.

#### ❖ **Método de Classes**

A substância é administrada por gavagem, na concentração previamente estabelecida, em um grupo de 3 animais, uma única vez. Um próximo passo é executado, em função dos sinais de toxicidade, podendo-se seguir por: a) nenhum teste adicional é necessário; b) usar um grupo adicional de 3 animais com a mesma dose; ou c) usar um grupo adicional de 3 animais com uma dose superior ou inferior.

#### ♦ **Irritação/Corrosividade Ocular**

O teste se baseia na instilação da amostra teste, pura ou diluída, de acordo com o uso, no saco conjuntival de coelhos albinos Nova Zelândia. As leituras das lesões de conjuntiva (hiperemia, quimose e secreção), íris (irite) e córnea (densidade e área de opacidade) são realizadas nos dias 1, 2, 3 e 7 após a aplicação, podendo se prolongar até o 28º dia, seguindo a escala de Draize. Ingredientes ou produtos acabados com pH igual ou menor que 2,0 ou igual ou superior a 11,5 são considerados corrosivos e não devem ser avaliados.

### ♦ Irritação/Corrosividade Cutânea

A irritação dérmica pode ser conceituada como danos reversíveis ocasionados à pele (eritemas, ressecamento e edema) após a aplicação da substância teste e posterior avaliação segundo a escala de Draize. O ensaio se baseia na aplicação da amostra teste, pura ou diluída (de acordo com o uso), no dorso tricotomizado de coelhos albinos Nova Zelândia. Ingredientes ou produtos acabados com pH igual ou menor que 2,0 ou igual ou superior a 11,5 são considerados corrosivos e não devem ser avaliados.

### ♦ Avaliação da Irritação Primária

A amostra é mantida sob *patch* oclusivo por 4 horas, quando é retirada com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% ou água destilada. As leituras de eritema e edema são realizadas 24 e 72 horas após a aplicação.

### ♦ Avaliação da Irritação Acumulada

A amostra é mantida sob *patch* oclusivo por 4 horas, quando é retirada com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% ou água destilada. As aplicações são realizadas durante um período de 10 dias consecutivos. As leituras de eritema e edema são realizadas 24 e 72 horas após a última aplicação.

### ♦ Sensibilização Dérmica

O desenvolvimento de reações de sensibilização envolve um grande número de processos imunológicos. Este ensaio se destina a avaliar o potencial alergênico de ingredientes e produtos cosméticos, quando aplicados na pele de animais de experimentação. A pele de porquinhos da Índia tem sido referida como útil para o desenvolvimento das propriedades sensibilizantes. O ensaio compreende três fases: indução, repouso e desafio. De forma geral, na fase de indução é usada a menor concentração irritante, enquanto que no desafio, a maior concentração não irritante, sendo que produtos não irritantes serão testados não diluídos. A OECD preconiza os testes de Maximização, Buehler e o LLNA (Local Lymph Node Assay) para testar o potencial alergênico de substâncias.

#### ♦ **Teste de Irritação da Mucosa Oral**

O teste baseia-se na aplicação do produto íntegro ou diluído (conforme indicação de uso) na bolsa gútural de hamsters através de seringa de insulina sem agulha. São realizadas 4 aplicações, com intervalo de 1 hora entre estas, num único dia. Os animais são submetidos à eutanásia, 24 horas após a última aplicação e encaminhados para exame anatomopatológico para emissão de laudo sobre o potencial de irritação.

#### ♦ **Teste de Irritação da Mucosa Vaginal**

O ensaio baseia-se na aplicação do produto na vagina de coelhas, com auxílio de cateter, durante 5 dias consecutivos. Procede-se uma leitura macroscópica 24 horas após a última aplicação, quando os animais são submetidos à eutanásia e enviados para exame histopatológico, para a determinação do potencial de irritação.

#### ♦ **Teste de Irritação da Mucosa Peniana**

O teste baseia-se na aplicação do produto sobre a mucosa peniana de coelhos. São realizadas 4 aplicações com intervalo de 1 hora entre estas. Os animais são mantidos em gaiola de contenção individual entre cada aplicação. As leituras são realizadas anteriormente a cada aplicação e 24 e 48 horas depois da última aplicação. Após a última leitura, os animais são submetidos à eutanásia e enviados para exame histopatológico, para determinação do potencial de irritação.

#### ♦ **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; a orelha esquerda é utilizada como controle. São realizadas leituras diárias e 24 horas após a última aplicação para verificação de eritema, edema e presença ou ausência de comedões.

## Ensaio *in vitro*

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. Desenvolvidos inicialmente para responder corretamente às necessidades de pesquisa em farmacologia, 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 OECD. 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 microrganismos, 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 regulatórios (MANZINI, 2000; BARILE, 2008).

Abaixo, estão apresentados os principais métodos *in vitro*. É importante destacar que nem todos os métodos foram validados, neste caso, os métodos válidos devem somente ser utilizados para comparações internas.



### *Avaliação do potencial de irritação ocular*

Por meio de um conjunto de métodos *in vitro* (BCOP, ICE, HET-CAM, Citotoxicidade pela difusão em gel de agarose, Citotoxicidade pelo método do Vermelho Neutro, Citotoxicidade pelo método do NRU, 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/permeabilidade (BCOP) e citotoxicidade (NRU, MTT, RBC).

#### **HET-CAM (*Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane/membrana corioalantóide*)**

O objetivo do ensaio é avaliar semi-quantitativamente o potencial irritante de um ingrediente (produtos solúveis, emulsões, géis e óleos), sobre a membrana córioalantóide 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 córioalantóide. Obtém-se uma escala que considera os fenômenos observados.

#### **BCOP (*Bovine Corneal Opacity and Permeability/Permeabilidade e opacidade de córnea bovina*) /ICE (*Isolated Chicken Eye/Olho Isolado de Galinha*)**

O objetivo do ensaio é avaliar quantitativamente o potencial irritante de um ingrediente após aplicação sobre a córnea isolada de bovino ou olho isolado de galinha, através da medida da opacidade e da permeabilidade após o contato com o produto teste. A medida da opacificação da córnea é 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. A medida da permeabilidade da

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

### **RBC – *Red blood cell***

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*.

### **Citotoxicidade pelo método de vermelho neutro NRU (*Neutral Red Uptake*)**

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

### **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 concentração do produto que inibe 50% do crescimento celular (IC50). Não aplicável a produtos insolúveis em água.

### *Avaliação do potencial de irritação cutânea*

A avaliação do potencial de dano sobre a pele pode ser feita através do uso de métodos *in vitro* visando verificar a ação irritativa ou corrosiva de produtos e substâncias.

#### **Epiderme Reconstituída**

Os métodos de pele reconstituída aplicados de acordo com o descrito no *ESAC Statement on the Validity of in-vitro tests for skin irritation*, podem ser usados como substitutos do teste de Draize ou como procedimento de *screening* antes de se executar o teste em animais. Estes métodos se baseiam na aplicação da amostra em substrato de pele reconstituída, com posterior avaliação pela redução do MTT.

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. Também pode ser usado o teste de Resistência Transepidermal (TER), que consiste na avaliação da resistência elétrica em pele isolada de rato, através de aparelhos específicos para este fim.

### *Avaliação do potencial fototóxico*

O teste de fototoxicidade, através da metodologia 3T3 NRU-UV, 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*.

#### **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 re-

duz o crescimento celular (linhagem 3T3) utilizando-se um corante vital (vermelho neutro).

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

### *Avaliação da permeação e retenção cutâneas*

O objetivo do estudo é avaliar *in vitro* a permeação cutânea e retenção cutânea de uma molécula ativa. A membrana modelo para este estudo pode ser obtida a partir da pele da orelha do porco ou pele humana proveniente de cirurgia plástica (HAWKINS; REIFENRATH, 1986; WAGNER et al., 2001).

A permeação cutânea tem sido conceituada como a passagem de ingredientes de formulações aplicadas na pele através da camada córnea (IDSON, 1975; REIFENRATH et al., 1991). Na maioria das vezes, a permeação cutânea não pode ser evitada, entretanto pode ser modificada pelos ingredientes da formulação, por se tratar de uma interação físico-química entre dois sistemas (produto vs. membrana de absorção) modulados por uma barreira (camada córnea). A presença de adjuvantes na formulação como promotores de absorção cutânea (alteradores da permeabilidade cutânea) e veiculação de ativos em sistemas de liberação (lipossomas, nanopartículas, nano e micro emulsões, etc) influenciam o grau de penetração/permeação cutânea do ingrediente. Além destes fatores, a penetração/permeação cutânea dependerá do tempo de contato do produto com a pele, da concentração dos ingredientes estudados e da área de contato, conforme descrito pela Lei de Fick. Como modelo experimental *in vitro* e *in vivo* de penetração/permeação para formulações cosméticas, os estudos devem ser realizados em modelo de pele íntegra (BARRY, 1993; RIEGER, 1993, SCHAEFFER; REDELMEIER, 1996).

Diversos métodos têm sido descritos para quantificar o trânsito de substâncias através da pele. As técnicas *in vitro* têm sido usadas frequentemente. Estas permitem tomar amostras analíticas com grande precisão para a ava-

liação da permeação de um ativo. Experimentos de permeação *in vitro* são realizados com o uso de células de difusão, chamadas de célula de Franz (SMITH; HAIGH, 1989).

Os resultados obtidos podem ser considerados para o estudo dos mecanismos de alergia e irritação cutânea. Do mesmo modo, efeitos toxicológicos sistêmicos estão intimamente ligados ao grau de penetração/permeação cutânea.

## Ensaio clínico

Produtos cosméticos podem necessitar de estudos clínicos em humanos, para que as empresas ofereçam aos consumidores o máximo de segurança com o menor risco, garantindo as melhores condições de uso do produto. A partir das informações pré-clínicas, deve ser confirmada a evidência de segurança com o uso por humanos. Estas informações também podem ser importantes para estabelecer advertências de rotulagem e orientações para o serviço de atendimento ao consumidor.

Os estudos clínicos com o objetivo de confirmação de segurança em humanos consistem em dois grandes grupos: estudos de compatibilidade (condições maximizadas) e estudos de aceitabilidade (condições reais de uso). Há um valor preditivo nesses estudos, entretanto os resultados negativos não significam ausência total de eventuais reações nos usuários (WAGGONER, 1979; MOSKONITZ, 1984; BARAN; MAILBACH, 1994; COLIPA, 1999a; COLIPA, 1999b).

Todos os estudos clínicos devem seguir um protocolo de pesquisa que permita sua condução adequada e baseada em premissas éticas e boas práticas clínicas.

O relatório de estudo pertinente ao ensaio clínico deve ser devidamente documentado, apresentado de forma clara, objetivo, conclusivo e preparado por profissional habilitado. O modelo desse relatório consta no Anexo III.

## Estudos de compatibilidade

Os estudos de compatibilidade representam o primeiro contato do produto acabado em seres humanos e têm por objetivo comprovar a segurança deste produto sob condições maximizadas, com área de aplicação e quantidade aplicada controlada.

Quando forem realizados devem anteceder os estudos de aceitabilidade, pois visam comprovar a segurança pré-determinada pelos dados pré-clínicos e minimizar riscos de reações adversas nos estudos de aceitabilidade.

São realizados de modo geral com apósitos oclusivos ou semi-oclusivos (Ex: patch *tests*) ou em modelos abertos (Ex: open *tests*), baseados em várias metodologias e critérios de avaliação descritos na literatura.

Com esses estudos podemos comprovar tanto a ausência de potenciais de mecanismo irritativo quanto alergênico de um produto na população estudada, devendo ser conduzidos e coordenados por um médico dermatologista. As avaliações de sensibilização cutânea e fotossensibilização também poderão ser conduzidas por médico alergologista.

De forma a complementar os estudos de irritação e alergia, os fototestes (fotoirritação e fotossensibilização) são indicados de acordo com a formulação e o modo de uso, bem como para os produtos de exposição solar intencional.

### **Avaliação da Irritação Cutânea Primária e Acumulada**

Esses estudos têm por objetivo comprovar a ausência de reações de irritação dérmica primária e acumulada na população estudada e consistem em aplicação única ou repetida, respectivamente, de forma aberta, semi-oclusiva ou oclusiva, conforme o produto a ser avaliado, utilizando número mínimo de voluntários justificado em um protocolo respaldado por dados científicos. Estes estudos não são recomendados para produtos primariamente irritantes.

O estudo de avaliação de ausência de irritação dérmica primária pode ser considerado como a primeira etapa clínica. Quando realizado de forma isolada na avaliação de novos produtos, não é suficiente para comprovação de segurança.

A avaliação de irritação dérmica acumulada tem sido realizada por no mínimo três semanas de aplicação e 50 voluntários, o que normalmente atende às exigências de todas as agências regulatórias mundiais. Porém existem outros modelos de avaliação clínica estabelecidos que permitem um número menor de voluntários em prazos diferentes, desde que haja uma sustentação técnica adequada.

Em geral, a interpretação dos resultados considera a escala do International Contact Dermatitis Research Group - ICDRG (DRAIZE, 1965; MAILBACH; EPSTEIN, 1965; KLIGMAN; WOODING, 1967; WILKINSON, 1970; MARZULLI, 1975; CTFA, 1991; FISHER, 1995; WALKER et al., 1997; MARZULLI, 2008).

### **Avaliação da Comedogenicidade em *patch***

A comedogenicidade é um processo decorrente da hiperqueratinização causada pela irritação da unidade pilossebácea, sem processo inflamatório visível.

A avaliação de comedogenicidade deve ser realizada em um mínimo de 5 voluntários fototipos V e VI com aplicação no dorso, de forma padronizada, por um tempo de 28 dias. Antes de cada aplicação faz-se as leituras clínicas de comedões na área em estudo, para na etapa final do estudo realizar a biópsia com cola de cianoacrilato e a leitura dos achados em microscopia óptica (MARKS; DAWBER, 1971; MILLS; KLIGMAN, 1982; )

### **Avaliação da Sensibilização Dérmica**

Esses estudos têm por objetivo comprovar a ausência de reações alérgicas por sensibilização (reações imunes de hipersensibilidade tardia ou do tipo IV) e contemplam 3 fases: indução, repouso e desafio.

O teste de sensibilização dérmica consiste em uma série de aplicações de forma semi-oclusiva ou oclusiva, de acordo com o produto a ser avaliado em, no mínimo, 50 voluntários, seguindo a interpretação dos resultados considerando o ICDRG. Para produtos irritantes, deve ser realizado com amostras diluídas, de forma a não induzir resultados falsos positivos (DRAI-ZE, 1965; MAILBACH, EPSTEIN, 1965; AGRUP, 1968; SHELANSKI; SHELANSKI, 1979 DOOMS; GOOSSENS, 1993; FISHER, 1995)

### **Avaliação de Fotoirritação**

O estudo de fotoirritação, que está incluído na avaliação de fototoxicidade, visa comprovar a ausência do potencial irritante de um produto aplicado na pele quando exposto à radiação ultravioleta.

O estudo consiste em uma única aplicação (24h) de forma aberta, semi-oclusiva ou oclusiva, de acordo com o produto a ser avaliado em, no mínimo, 25 voluntários, seguindo a interpretação dos resultados considerando o ICDRG. O sítio de aplicação deve ser irradiado com espectro de emissão de radiação ultravioleta e energia previamente padronizada (KADBEY; KLIGMAN, 1980).

### **Avaliação de Fotossensibilização**

O estudo de fotossensibilização, também conhecido como fotoalergia, visa comprovar a ausência do potencial alergênico de um produto aplicado na pele quando exposto à radiação ultravioleta.

Consiste em uma série de aplicações de forma aberta, oclusiva ou semi-oclusiva, de acordo com o produto a ser avaliado, e deve ser realizado em, no mínimo, 25 voluntários, seguindo a interpretação dos resultados considerando o ICDRG. O sítio de aplicação deve ser irradiado com espectro de emissão de radiação ultravioleta e energia previamente padronizada, contemplando 3 fases: indução, repouso e desafio (STORK, 1965; WILLIS; KLIGMAN, 1968; STOTT, 1970; HERMAN, 1972; KAIDBEY; KLIGMAN, 1978; KADBEY; KLIGMAN, 1980; GUILLOT, et al., 1985).



Produtos irritantes devem ser aplicados após diluição, de forma a não induzir resultados falsos positivos.

## Estudos de aceitabilidade

Os estudos de aceitabilidade têm por objetivo confirmar em condições reais de uso a ausência de risco de irritação primária e/ou acumulada e captar sensações de desconforto relatadas pelos voluntários em condições normais ou razoavelmente previsíveis de uso. Da mesma forma, podem, também, ser aplicados para investigação de segurança de uso para reações subjetivas ou não necessariamente cutâneas, por exemplo, lacrimejamento. Estes estudos não têm por objetivo confirmar ausência do risco sensibilizante (alergia).

Os protocolos de aceitabilidade devem levar em consideração as condições de uso determinadas pelo fabricante, com critérios de inclusão e exclusão padronizados, onde a única variável é o uso do produto. Os estudos de aceitabilidade devem ser realizados em, no mínimo, 30 voluntários, com avaliação dermatológica. A duração indicada do estudo é de 3 semanas, podendo variar de acordo com o perfil do produto (WAGGONER, 1979; JACKSON; ROBILLARD, 1982).

Para produtos com apelos específicos de segurança, o estudo deve ter acompanhamento de um especialista. Ex: testes de produtos com apelo “oftalmologicamente testado” devem ser avaliados por oftalmologista (vide Anexo IV).

Estudos de eficácia cujo protocolo prevê avaliação de segurança e atende aos critérios acima podem ser utilizados como estudos de segurança.

### **Avaliação de Acnegenicidade e Comedogenicidade em uso**

A acnegenicidade é um fenômeno decorrente da hiperqueratinização causada pela irritação da unidade pilosebácea, com ou sem reação inflamatória. Esta reação, quando não evolui para inflamação, tem sido descrita como

comedogenicidade. A acne compreende o desenvolvimento de comedões fechados, abertos, pápulas e pústulas, de forma isolada ou concomitante (BRONAUGH; MAIBACH, 1987; BARAN; CHIVOT; SHALITA, 1994 SAMPAIO; RIVITTI, 2007).

Estas avaliações devem ser realizadas em indivíduos correspondendo à população alvo, com pele com tendência à oleosidade e/ou acne, com critérios de exclusão e inclusão padronizados. O uso do produto também deve ser padronizado de acordo com as orientações do fabricante. Usualmente, a duração indicada do estudo é de quatro semanas com contagem inicial e final de lesões (MARKS; DAWBER, 1971; MILLS; KLIGMAN, 1982; ZATULOVE; KONNERTH, 1987; MILLS; BERGER, 1990):

- comedões: para avaliação de Comedogenicidade
- comedões, pápulas e pústulas: para avaliação de Acnegenicidade

Estudos de acnegenicidade cujos protocolos prevêm avaliação de segurança e atendem aos critérios estabelecidos para avaliação de aceitabilidade podem ser utilizados como estudos de segurança.

### **Avaliação de produto para Pele Sensível**

A pele sensível tem sido conceituada como um estado em que a pele apresenta um limiar menor ao estímulo irritante, possivelmente devido a variações na estrutura da pele, por exemplo, uma hiperreatividade das estruturas nervosas, uma alteração de barreira cutânea ou da microcirculação dérmica. A irritação pode ser subjetiva (percebida) ou apresentar sinais clínicos, podendo ser avaliada de várias maneiras, sendo as mais utilizadas o teste com ácido láctico (Stinging Test) para produtos faciais e históricos de sensações de desconforto com o uso de cosméticos. Produtos com esta indicação devem ser estudados inicialmente por meio de protocolos de compatibilidade, seguido de estudo de aceitabilidade em público alvo (SIMON, 1994 ; FISHER, 1995; DRAELOS, 1997; MORIZOT; LE FUR; TSCHACHLER, 1998; MUIZZUDDIN, 1998; DRAELOS, 2000)

## **Verificação da Aceitabilidade Ocular**

O teste de aceitabilidade ocular tem como objetivo comprovar a segurança do produto na área peri-ocular. O número de sujeitos de pesquisa cujos dados serão explorados no final do estudo na verificação da aceitabilidade ocular será de pelo menos 30.

No centro de investigação, será realizado um exame visual dos olhos pelo médico oftalmologista sob fonte padrão de “luz do dia”/lâmpada de Fenda.

Em alguns casos, de acordo com a categoria do produto ou tipo de aplicação, um exame da área peri-ocular e da membrana mucosa ocular completo será realizado pelo oftalmologista usando uma lâmpada de fenda, com o objetivo de melhor visualização das estruturas do globo ocular.

Em caso de reatividade, o oftalmologista deverá anotar os sinais clínicos visíveis considerando a conjuntiva, a córnea e a modificação da secreção lacrimal (HOBSON, 1991; CHIOU, 1999)

## **Avaliação de segurança baseada na semelhança de produtos**

A avaliação da segurança de um produto cosmético por semelhança é possível desde que o produto originalmente desenvolvido e o novo produto possuam formulações semelhantes em termos de composição. Este conceito é aplicado para comprovação de segurança.

Esta avaliação está baseada nos dados disponíveis de produtos que já comprovaram sua segurança. Isso implica que as diferenças existentes entre dois ou mais produtos sejam mínimas e cujas modificações não alterem sua tolerância.

A elaboração de um dossiê de segurança baseada no princípio de semelhança é um exercício particularmente complexo, uma vez que alterações qualitativas ou quantitativas de qualquer um dos ingredientes podem modificar as características da nova fórmula. Por esta razão, esta avaliação deve ser realizada por um especialista, baseado nas informações de segurança do produto original, dos ingredientes contidos na sua fórmula, assim como dos ingredientes substitutos, das interações possíveis entre esses ingredientes e o impacto toxicológico resultante sobre as alterações propostas.

Um produto cosmético corresponde a uma formulação complexa, onde cada um dos ingredientes tem uma função específica e características próprias em relação a sua estabilidade físico-química, microbiológica, a sua conservação no tempo e a sua funcionalidade quando colocado em contato com a pele ou mucosas. A variação de qualquer um destes parâmetros pode afetar a segurança do produto.

Essas premissas justificam porque a avaliação da segurança por semelhança só pode ser feita caso a caso, consequentemente, não permitem estabelecer diretrizes de caráter geral.

A partir destas considerações, a noção de semelhança só pode ser considerada para produtos:

- desenvolvidos pela mesma empresa;
- pertencentes ao mesmo grupo de produto, segundo RDC 211/05 e suas atualizações;
- com as mesmas condições de uso;
- cujo produto original disponha de dados que comprovem sua segurança.

As alterações feitas em relação ao produto original só podem envolver, simultaneamente:

- ingredientes de mesmas características físico-químicas,
- ingredientes cujo potencial toxicológico é conhecido,

- ingredientes documentados da empresa por já terem sido incorporados ao mesmo nível de concentração em outros produtos da mesma categoria cosmética.

As alterações feitas no produto devem ser respaldadas em justificativas detalhadas e, a priori, não deveriam envolver conservantes, filtros solares, fragrâncias e tensoativos, exceto redução quantitativa dos mesmos, sendo que a escolha dos estudos complementares deve ser feita caso a caso.

Ainda que se possa considerar que a redução ou a eliminação de ingredientes do produto original constitua um fator favorável na avaliação por semelhança, ela não isenta o processo usual de avaliação de segurança.

Além disso, as alterações não devem aumentar o nível de penetração cutânea que possa induzir risco toxicológico para qualquer um dos ingredientes que permanecem na fórmula do produto semelhante.

Deve-se ressaltar também que a avaliação por semelhança leva em conta o estado da arte, no momento em que esta avaliação é feita. É então necessário verificar também se os dados de referência disponíveis respondem aos requisitos atualizados em termos de avaliação de segurança.

### **Declaração de semelhança**

A justificativa de semelhança deve ser devidamente documentada em uma Declaração de Semelhança, indicando de maneira explícita o raciocínio que permite concluir a semelhança e ter como responsável um profissional competente na área. Essa competência pressupõe conhecimentos em química, desenvolvimento de produto, toxicologia, fisiologia, bioquímica, entre outros.

A análise é feita considerando:

1. **Aspectos da legislação nacional vigente; Publicações científicas indexadas;**
2. **Base de dados da empresa;**
3. **Guias nacionais e internacionais;**
4. **Análise dos dados do produto de referência;**
5. **Análise do perfil do produto semelhante, contemplando os seguintes parâmetros:**
6. **Justificativa(s) técnica(s) para a(s) alteração(ões) apresentada(s) pelo solicitante;**
7. **Categoria de produto e finalidade de uso;**
  - Quantidade de produto por aplicação;
  - Frequência de uso;
  - Tempo de contato;
  - Consumidor alvo;
  - Advertências e restrições de uso;
  - Modo de aplicação;
  - Possíveis desvios no emprego do produto (uso inadequado);
  - Área e superfície de aplicação;
8. **Análise das alterações ligadas aos ingredientes e às formulações**
  - Diferenças qualitativas e quantitativas entre as formulações;
  - Alterações relacionadas aos ingredientes, como por exemplo, ligadas à funcionalidade, à reatividade, às especificações físico-químicas, entre outras.
  - Alterações impactantes nas formulações:
    - Estabilidade físico-química e microbiológica da nova formulação
    - Dados obtidos dos estudos pré-clínicos e clínicos da formulação do produto original
    - Histórico da formulação do produto original
    - Dados de Cosmetovigilância da formulação do produto original

A declaração de semelhança deve contemplar os seguintes itens:

1. **Apresentação clara das diferenças existentes entre as formulações (Quadro 1);**
2. **Apresentação resumida dos dados coletados que sustentam a semelhança, sendo que todos os dados utilizados devem estar disponíveis para um possível controle posterior;**
3. **Discussão;**
4. **Conclusão;**
5. **Identificação e assinatura do responsável pela avaliação;**
6. **Anexos: os documentos utilizados como referência devem estar disponíveis à Autoridade Sanitária Competente.**

**Quadro 1** Modelo a ser anexado na Declaração de Semelhança

<b>Ingrediente</b>	<b>Concentração na fórmula do produto de referência</b>	<b>Concentração na nova formulação</b>	<b>Percentual de variação do ingrediente</b>

### **Avaliação em *pool***

Avaliação em *pool* tem sido utilizada como um recurso que permite analisar a semelhança entre amostras formadas a partir da mistura equitativa de produtos de mesmo grupo, com uma base de igual composição qualitativa e variação nos pigmentos e corantes. Esse recurso pode ser utilizado para as seguintes categorias de produto: maquiagens, esmaltes, tinturas capilares.

## Ética e boas práticas clínicas na avaliação de segurança de produtos cosméticos em humanos

De acordo com a Declaração de Helsinki e suas atualizações e com a legislação brasileira, qualquer pesquisa que envolva seres humanos deve obedecer a premissas éticas. As medidas de aspecto ético têm por finalidade assegurar a integridade, dignidade, bem-estar, direitos, confidencialidade do sujeito de pesquisa (WMA, 1964). No Brasil, o Conselho Nacional de Saúde regulamentou as pesquisas envolvendo seres humanos através da Resolução 196/96 e suas atualizações (BRASIL, 1996).

As Boas Práticas Clínicas- BPC (*Good Clinical Practices* - GCP) favorecem o cumprimento das questões éticas, além de propiciar condições de reprodutibilidade, rastreabilidade e fidedignidade dos dados.

Algumas recomendações básicas das Boas Práticas Clínicas são exemplificadas abaixo:

- desenvolvimento de protocolo de pesquisa e sua justificativa;
- dados pré-clínicos consistentes que garantam a segurança nas avaliações clínicas: experimentação prévia realizada *in vitro*, em animais, dados de literatura científica e de Cosmetovigilância;
- infra-estrutura para condução da pesquisa com profissionais qualificados e atendimento médico para o caso de intercorrência (ISO, 2005; BRASIL, 2009b);
- consentimento voluntário do sujeito de pesquisa, documentado através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) que deve conter todas as informações necessárias ao sujeito de pesquisa para que ele entenda e aceite sua participação na pesquisa. Este documento deve ser assinado pelo voluntário.



Embora a avaliação do produto cosmético em humanos não ocorra no sentido de investigar o potencial de risco, e sim de confirmar a segurança de uso, deve-se observar as premissas éticas e as BPC na realização dos estudos. Estas condutas possibilitam resultados de qualidade e segurança para o usuário.

## Cosmetovigilância

Cosmetovigilância é a atividade que consiste em observar e analisar eventos adversos dos produtos cosméticos disponíveis no mercado de modo a tomar condutas pertinentes, de acordo com a relação de causa estabelecida.

Compreende, portanto, a captação e o respectivo registro de todo e qualquer efeito indesejável em uma base de dados da empresa, a exploração e a avaliação dos dados disponíveis, a análise da casualidade do efeito, bem como a organização e a implementação de ações corretivas e preventivas.

Com a publicação da Resolução RDC 332/2005, as empresas fabricantes e/ou importadoras de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, instaladas no território nacional, foram obrigadas a implementar um Sistema de Cosmetovigilância, a partir de 31 de dezembro de 2005 (BRASIL, 2005b). A implantação desse sistema mostrou-se oportuna em virtude da necessidade de monitorar e avaliar a ocorrência de eventos adversos a cosméticos.

Os dados de Cosmetovigilância devem ser avaliados em função das particularidades dos cosméticos, a saber: acesso e uso livres dos produtos pelos consumidores, uso disseminado e grande número de produtos utilizados ao mesmo tempo.

Considerando que as reações adversas a cosméticos podem também ocorrer pelo uso inadequado, por desvios de qualidade, rotulagem e comunicação do produto, esses pontos devem também ser investigados no exercício da Cosmetovigilância.

Além disso, esse sistema reforça a importância das empresas e das autoridades sanitárias na proteção da saúde da população e promoção do uso correto e seguro dos produtos cosméticos.

O sistema de Cosmetovigilância permite:

- Facilitar a comunicação por parte dos usuários sobre problemas decorrentes do uso, de defeitos de qualidade que afetem a segurança ou de eventos adversos a cosméticos.
- Construir e gerenciar um banco de dados, possibilitando o conhecimento dos riscos associados, a saber: uso dos produtos cosméticos, suas matérias-primas, ocorrência de eventos adversos e segurança de uso.
- Estimar a frequência de eventos adversos relacionados a novos cosméticos.
- Avaliar as implicações dos eventos adversos.
- Promover e estimular a notificação dos eventos adversos.
- Conduzir avaliações complementares e/ou estudos relacionados ao uso seguro de produtos cosméticos.
- Identificar produtos e/ou ingredientes que podem apresentar riscos à saúde do consumidor.
- Estabelecer ações de caráter preventivo e corretivo.

Por serem as principais responsáveis pela segurança do produto colocado à disposição no mercado, as empresas devem notificar à Anvisa no caso de reações que impliquem em risco à saúde do consumidor, conforme a RDC 332/05 (BRASIL, 2005b).

## Anexo I: Modelo de relatório para ensaios pré-clínicos

O relatório final deve incluir, no mínimo:

*1. Identificação do Estudo, da Substância Teste e da Substância de Referência:*

- a) Título descritivo;
- b) Identificação da substância/produto teste por código ou nome (denominações oficiais, número do CAS, etc.);
- c) Identificação da substância de referência por nome;
- d) Caracterização da substância teste incluindo pureza, estabilidade e homogeneidade.

*2. Informações sobre o Patrocinador e a Instalação de Teste:*

- a) Nome e endereço do patrocinador;
- b) Nome e endereço da(s) instalação(ões) de teste(s) e unidade(s) de teste(s) envolvida(s);
- c) Nome e endereço do diretor de estudo;
- d) Nome e endereço do(s) pesquisador(es) principal(is) e a(s) fase(s) do estudo delegada(s), se aplicável;
- e) Nome e endereço de cientistas que contribuíram com relatórios para o relatório final.

*3. Datas:*

Data do início e término dos experimentos.

#### 4. Declaração:

Uma declaração do Programa da Garantia da Qualidade listando os tipos de inspeções feitas e suas datas, incluindo a(s) fase(s) inspecionada(s), e as datas nas quais os resultados foram relatados à gerência da instalação de teste, ao diretor de estudo e, se aplicável, ao(s) pesquisador(es) principal(is). Esta declaração deve servir também para confirmar que o relatório final reflete os dados brutos.

#### 5. Descrição de Materiais e Métodos:

- a) Descrição dos métodos e materiais utilizados;
- b) Referência aos Guias de Testes (*Test Guidelines*) da OCDE ou a outros métodos utilizados.

#### 6. Resultados:

- a) Sumário dos resultados;
- b) Todas as informações e dados exigidos pelo plano de estudo;
- c) Apresentação dos resultados, incluindo cálculos e determinações de importância estatística;
- d) Avaliação e discussão dos resultados, e, onde apropriado, conclusões.

## Anexo II: Métodos com aceitação regulatória

Método	Propósito	Referência
Irritação Ocular	Irritação Ocular	OECD 405
Irritação Cutânea	Irritação Cutânea	OECD 404
Irritação Oral	Irritação Oral	ISO 10993
Irritação Vaginal	Irritação Vaginal	ISO 10993
Irritação Peniana	Irritação Peniana	ISO 10993
Método de Classes	Toxicidade Aguda Oral	OECD 423
Up-and-Down	Toxicidade Aguda Oral	OECD 425
Doses Fixas	Toxicidade Aguda Oral	OECD 420
BCOP	Irritação Severa/Corrosividade Ocular	OECD 437
ICE	Irritação Severa/Corrosividade Ocular	OECD 438
Fototoxicidade 3T3 NRU	Fototoxicidade	OECD 432
Absorção cutânea <i>in vitro</i>	Absorção cutânea	OECD 428
Epiderme Reconstituída	Irritação cutânea	OECD 439
Epiderme Reconstituída	Corrosividade cutânea	OECD 431
TER	Corrosividade cutânea	OECD 430
LLNA	Sensibilidade cutânea	OECD 429

## Anexo III: Modelo de relatório para ensaios clínicos

O relatório do estudo deve refletir as condições de realização da pesquisa e deve conter os seguintes elementos básicos:

### 1. Capa

- a) Título do estudo
- b) Registro da referência do protocolo que foi aplicado durante o estudo, incluindo o número e data da versão

- c) Nome e endereço do instituto
- d) Nome e endereço do Patrocinador
- e) Número de série do relatório (identificação interna do instituto)

## 2. *Resumo*

Identificação do produto (nome, referência, código do estudo, código do produto e código do relatório), Objetivo do estudo, Método, Médico/investigador, Frequência de aplicação, Área de aplicação, Número de voluntários, Descrição da população, Aspectos Éticos, Resultados e Conclusão.

3. *Páginas com identificação interna do instituto, número de páginas e número total de páginas.*

## 4. *Índice*

### 5. *Introdução*

### 6. *Objetivo do estudo*

### 7. *Identificação do Produto*

- a) código/nome do produto fornecido pela empresa
- b) grupo de produto
- c) validade da amostra testada

### d) período do estudo

## 8. *Sujeitos de pesquisa*

- a) Composição do painel
- b) Critérios inclusão e exclusão
- c) Equipe

## 9. *Material e Métodos*

- a) Metodologia, incluindo modo de uso no caso de testes de uso
- b) Condições do estudo

## 10. *Resultados*

- a) Resultados, incluindo eventos e reações adversas observados e os critérios de aceitação
- b) Desvios de condução do estudo
- c) Adesão dos voluntários

11. *Discussão (quando aplicável)*

12. *Conclusões contendo assinatura com identificação das especialidades do investigador principal, dos co-investigadores (quando houver), garantia da qualidade, outros (se aplicável) e data.*

13. *Referências bibliográficas*

14. *Anexos:*

a) Fórmula do produto

b) Lista de voluntários contendo no mínimo: iniciais, sexo, idade.

c) TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido)

d) Dados brutos

## Anexo IV: Atributos de segurança

Atributo	Significado/ comentários	Ensaios recomendados em humanos
<b>Dermatologicamente testado*</b>	Avaliado em seres humanos sob controle de dermatologista	Estudos de compatibilidade cutânea de acordo com o grupo de produto e/ou aceitabilidade cutânea, em condições normais de uso com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final
<b>Oftalmologicamente testado**</b>	Avaliado em humanos sob controle de oftalmologista, acompanhado ou não de dermatologista	Estudo de aceitabilidade com análise de parâmetros oftalmológicos: avaliação clínica, no mínimo, inicial e final com lâmpada de fenda
<b>Clinicamente testado</b>	Avaliado em humanos sob controle de dermatologista, ou outro especialista de acordo com a finalidade do produto	Estudos de aceitabilidade cutânea, em condições normais de uso com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final

>>

Atributo	Significado/ comentários	Ensaio recomendado em humanos
<b>Avaliado por Pediatras/ Ginecologistas/ Dentistas/ Urologistas/outros**</b>	Avaliado em humanos sob controle de pediatra/ ginecologista/ dentista/ urologista ou outro especialista, acompanhado ou não de dermatologista	Estudos de aceitabilidade, em público alvo ou área alvo, com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final, analisando-se particularidades dos sítios de uso ex: mucosa oral e dentes, por dentista; mucosa e pele genital, em produtos de cuidados íntimos, por ginecologista/ urologista, etc.
<b>Não comedogênico</b>	Avaliado em humanos sob controle de dermatologista comprovando a ausência ou o agravamento de comedões (cravos)	Estudos de comedogenicidade em patch ou aceitabilidade com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final
<b>Não acnegênico</b>	Avaliado em humanos sob controle de dermatologista comprovando a ausência ou o agravamento da acne (espinhas)	Estudos de acnegenicidade em uso com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final
<b>Hipoalergênico***</b>	Avaliado sob controle de dermatologista ou alergologista comprovando a baixa capacidade de induzir sensibilização	Estudos de compatibilidade cutânea de sensibilização e fotosensibilização, sem ocorrência de reações, com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final

\*O ensaio de irritação dérmica primária não pode ser usado isoladamente para a comprovação do atributo “dermatologicamente testado”.

\*\* Estes estudos também permitem o uso do atributo “cl clinicamente testado”.

\*\*\* Os estudos de compatibilidade não são a única premissa para verificar o menor grau de risco de reações alérgicas de um produto; grupo do produto e ingredientes de potencial alergênico consagrado. Ex: resinas com formaldeído em esmaltes, fragrâncias listadas na Resolução RDC 3/2012 e suas atualizações (BRASIL, 2012) devem ser consideradas, além dos resultados negativos dos estudos de compatibilidade para a comprovação deste apelo.



### *Ensaios para públicos específicos:*

<b>Público</b>	<b>Significado/comentários</b>	<b>Ensaios recomendados em humanos</b>
<b>Pele Sensível</b>	Avaliado sob controle de dermatologista em indivíduos que sejam diagnosticados previamente como portadores de pele sensível.	Estudos de compatibilidade em população normal e aceitabilidade cutânea em indivíduos de pele sensível com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final.
<b>Infantil</b>	Produto apropriado para uso infantil.	Estudos de compatibilidade cutânea e/ou aceitabilidade em adultos e, em casos específicos, na seqüência, ensaios de aceitabilidade cutânea, no público alvo, com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final.
<b>Gestantes*</b>	Produto apropriado para uso em gestantes	Estudos de compatibilidade cutânea e/ou aceitabilidade em não gestantes e, em casos específicos, na seqüência, ensaios de aceitabilidade cutânea, no público alvo, com avaliação clínica, no mínimo, inicial e final.

\* Dados de teratogenicidade de ingredientes devem ser avaliados antes da realização de teste de aceitabilidade no público alvo.

## **Definições e terminologia**

**Absorção cutânea:** processo pelo qual o ingrediente atinge a corrente circulatória através da via cutânea.

**Aparelho Tegumentar:** Também chamado de sistema tegumentar, compreende a pele e seus anexos (unhas, pelos e glândulas).

**Boas Práticas Clínicas:** Padrão internacional de qualidade ética e científica para o desenho, condução e desempenho, monitorização, auditoria, registro, análise e relatório de estudos clínicos, que assegura a credibilidade e a precisão dos dados e dos resultados relatados, bem como a proteção do direito, integridade e confidencialidade dos indivíduos participantes de estudos clínicos.

**Boas Práticas de Fabricação e Controle:** Normas que estabelecem padronização, procedimentos, métodos de controle de qualidade e métodos de fabricação.

**Boas Práticas de Laboratório:** sistema da qualidade relativo à organização e às condições sob as quais os estudos em laboratório e no campo são planejados, realizados, monitorados, registrados, relatados e arquivados. Seus princípios foram concebidos para estudos que dizem respeito ao uso seguro de produtos relacionados à saúde humana, vegetal, animal e ao meio ambiente.

**Comedão:** “rolha” de queratina e sebo contida em um orifício pilosebáceo dilatado, sem sinais inflamatórios. Consiste na lesão primária da acne.

**Comedão aberto:** também chamado de cravo preto, consiste no comedão cuja superfície constituída de sebo se escureceu devido à oxidação dos ácidos graxos em contato com o ar.

**Comedão fechado:** também chamado de cravo branco, é o comedão que não tem a superfície oxidada, pois o orifício pilosebáceo ainda não se encontra tão dilatado.

**Declaração de Helsinki:** Documento internacional de referência com relação às diretrizes éticas para as pesquisas científicas envolvendo seres humanos, elaborado pela Assembléia Médica Mundial, em 1964, com o objetivo de proteção aos direitos humanos, no sentido de serem asseguradas a integridade e dignidade das pessoas. As recomendações incluem os procedimentos requeridos para garantir a segurança e o bem estar dos

sujeitos envolvidos em pesquisa clínica, como o consentimento livre e esclarecido e a aprovação dos protocolos por um comitê de ética.

**ECVAM:** *European Centre for Validation of Alternative Methods*

**ESAC:** *ECVAM Scientific Advisory Committee*

**Pápula:** lesão sólida, circunscrita, elevada, de até 1 cm de tamanho

**Penetração:** passagem do(s) princípio(s) ativo(s) somente através do estrato córneo, camada externa da epiderme, composto pela fusão compacta das células queratinizadas (corneócitos) circundadas por uma matriz lipídica extracelular, alternando-se domínios hidrofílicos e lipofílicos, passíveis de servir de meio para que os princípios ativos penetrem.

**Permeação cutânea:** passagem do(s) princípio(s) ativo(s) através da epiderme, atingindo a epiderme viável (formada por células de intensa capacidade proliferativa) ou a derme.

**Pústulas:** elevação circunscrita e bem delimitada, contendo pus, de até 1 cm de diâmetro.

**Ressecamento:** termo comumente utilizado para xerose, condição de perda hídrica das camadas superficiais da pele, clinicamente observável por aspereza e eventual descamação leve.

**Senciente:** que sente ou tem sensações; sensível.

## Referências Bibliográficas

AGRUP, G. Sensitization induced by patch testing. **Br. J. Dermatol.**, v.80, p.631, 1968.

BARILE, Frank A. **Principles of Toxicology Testing**. Florida: Taylor and Francis Group, 2008.

BRASIL. Lei nº. 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, 24 set. 1976. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/L6360.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L6360.htm)>. Acesso em: 11 out. 2007.

BRASIL. Decreto nº. 79.094, de 05 de janeiro de 1977. Regulamenta a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, que submete a sistema de vigilância sanitária os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos, cosméticos, produtos de higiene, saneantes e outros. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, 7 jan. 1977. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/Antigos/D79094.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/Antigos/D79094.htm)>. Acesso em: 11 out. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996**. Estabelece os requisitos para realização de pesquisa clínica de produtos para saúde utilizando seres humanos. Disponível em: <[http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/saudelegis/cns/1996/res0196\\_10\\_10\\_1996.html](http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/saudelegis/cns/1996/res0196_10_10_1996.html)>. Acesso em: 12 abr. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 348, de 18 de agosto de 1997. Determinar a todos estabelecimentos produtores de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, o cumprimento das Diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico - Ma-

nual de Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 ago. 1997.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, 27 jan. 1999. Disponível em: < [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/L9782.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9782.htm) >. Acesso em: 09 set. 2008.

BRASIL. Portaria nº 295, de 16 de abril de 1998. Estabelece Critérios para Inclusão, Exclusão e Alteração de Concentração de Substâncias utilizadas em Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, 20 abr. 1998. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Cosmeticos/Assuntos+de+Interesse/Legislacoes/Legislacoes+Afins>>. Acesso em: 02 out. 2012.

BRASIL. **Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos**. Brasília, DF: Anvisa, 2003. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/index.htm>>. Acesso em 07 abr. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 211, de 14 de julho de 2005. Ficam estabelecidas a Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, conforme Anexos I e II desta Resolução. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 jul. 2005a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 332, de 1º de dezembro de 2005. As empresas fabricantes e/ou importadoras de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, instaladas no território nacional deverão implementar um Sistema de Cosmetovigilância, a partir de 31 de dezembro de 2005. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2 dez. 2005b.

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.

BRASIL. Decreto n. 6.899, de 15 de julho de 2009a. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA, mediante a regulamentação da Lei no 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências.. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, de 16 de julho de 2009, Brasília, Brasil: República Federativa do Brasil.

BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Norma N° NIT-DICLA-035 Rev. N° 01 de julho de 2009b. **Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL**. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/DICLA/NIT/NIT-DICLA-35\\_01.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/DICLA/NIT/NIT-DICLA-35_01.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 03, de 18 de janeiro de 2012. Aprova o Regulamento Técnico “Listas de substâncias que os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes não devem conter exceto nas condições e com as restrições estabelecidas” e dá outras providências. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília**, seção 1, p. 2, 20 jan. 2012.

BALLS, M. **The Three Rs and the Humanity Criterion**. Nottingham, UK: Frame, 2009.

ARRY, B.W. Vehicle effect: what is an enhancer? In: SHAH, V.P.; MAIBACH, H.I. (Ed.). **Topical drug bioavailability, bioequivalence and penetration**. New York: Plinim, 1993. cap. 14, p. 261 - 276.

BARAN; CHIVOT; SHALITA. Cosmetic treatment of special conditions - Acne. In: BARAN & MAIBACH (ed). **Cosmetic Dermatology**. London: Martin Dunitz, 1994. p. 299- 310.

BARAN, R.; MAIBACH, H. I. **Cosmetic Dermatology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

BETTON, C. I. **Global Regulatory Issues for the Cosmetics Industry**. volume 1. New York: William Andrew, 2007.

BRONAUGH; MAIBACH. Acnegenicity In: WHITTAM (ed). **Cosmetic Safety. Cosmetic Science and Technology Series**. New York: Marcel Dekker, 1987. p. 43.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (1998). **Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación**. Disponível em < [http://www.ccac.ca/en/CCAC\\_Programs/Guidelines\\_Policies/GUIDES/SPANISH/toc\\_v1.htm](http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDES/SPANISH/toc_v1.htm)>. Acesso em: 20 de junho de 2010.

CASARETT, L. J.; KLAASSEN, C. D.; DOULL, J. **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. New York: McGraw-Hill, 2008.

CHIOU, G. C. Y. **Ophthalmic toxicology**. Florida: Taylor & Francis, 1999.

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. Disponível em: < [ec.europa.eu/health/archive/ph.../out12\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/archive/ph.../out12_en.pdf)>. Acesso em: 20 de junho de 2010.

COSTEIRA, O. **Termos e expressões da prática médica**. Rio de Janeiro: FQM, 2001.

CTFA - Cosmetics Toiletries and Fragrance Association. **Safety Testing Guidelines**. 1991.

DÂNGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia Básica dos Sistemas Orgânicos**. 1ª ed. São Paulo: Atheneu, 1995.

DE GROOT, A.S; McMURRY, J; MOISE, L. Prediction of immunogenicity: in silico paradigms, ex vivo and in vivo correlates. **Curr Opin Pharmacol**, v. 8, n. 5, p. 620-626, 2008.

DOOMS, H.; GOOSSENS, A. Cosmetics as Causes of Allergic Contact Dermatitis. **Cutis**. v.52, p.316-320, 1993.

DRAELOS, Z. D. Formulating for sensitive skin. **Cosmetics & Toiletries**, v. 115, n. 6, p. 47-53, 2000.

DRAELOS, Z. D. Sensitive skin perceptions, evaluation and treatment. **American Journal of Contact Dermatitis**, v. 8, n. 2, p. 67-78, 1997.

DRAIZE, J. H. Appraisal of the safety of chemicals. **Foods, drugs and cosmetics**. p. 46-49, OECD 404, 1965.

FISHER, A. A. Ask the experts - “status cosmeticus” (cosmetic intolerance). **American Journal of Contact Dermatitis**, v. 6, p. 250-251, 1995.

ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Guidance for Industry E6 Good Clinical Practice: Consolidated Guidance ICH**. 1996. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM129515.pdf>>. Acesso em: 20 de junho de 2010.



GUILLOT, J. P. et al. 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.

HAWKINS, G. S.; REIFENRATH, W. G. Influence of skin source, penetration cell fluid, and, partition coefficient on in vitro skin penetration . **J. Pharm. Sci.**, v. 75, p. 378–381, 1986.

HERMAN, P. G.; SAMS, W. M. **Soap photo dermatitis**. 1972.

HOBSON, D. W. **Dermal and ocular toxicology: fundamentals and methods**. Florida: CRC Press, 1991.

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](http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/about_docs/validate.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2010.

IDSON, B. Percutaneous absorption. **J. Pharm. Sci.**, v. 64, p. 901–924, 1975.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 17025 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories**. 2005. Disponível em: <<http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA482.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2010.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 10993-10 – Biological Evaluation of Medical Devices – Part 10 – Test for Irritation and Sensitization**. 1995. Disponível em: <<http://www.iso.org/iso/search.htm?qt=ISO+10993-10+&searchSubmit=Search&sort=rel&type=simple&published=on>>. Acesso em: 10 dez. 2010.

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.

KAIDBEY, K. H; KLIGMAN, A. M. Identification of topical photosensitizing agents in humans. **J. Invest. Derm.** , v.70, p.149, 1978.

KADBEY, K. H., KLIGMAN, A. M. Photo maximization test for identifying photo allergic contact sensitizers. **Contact Dermatitis.** v. 6, p.161-169, 1980.

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.

LAPCHIK, V.; MATTARAIA, V.; Ko G. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório.** São Paulo: Atheneu, 2009.

MANZINI, J. **Declaración De Helsinki:** Principios Éticos Para La Investigación Médica Sobre Sujetos Humanos. Acta bioeth. Santiago, v. 6, n. 2, dez. 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-569X\\_2000000200010&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X_2000000200010&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 21ago. 2010.

MARKS, R.; DAWBER, R. P. R. Skin surface biopsy: An improved technique for examination of the horny layer. **Br. J. Dermatol.**, v. 84, p. 117-123, 1971.

MARZULLI, F. N.; MAILBACH, H. **Dermatotoxicology.** 7.ed. Florida: CRC Press, 2008.

MARZULLI, F. N.; MAIBACH, H. I. Model for evaluating skin irritants: A comparison of results obtained on animals and man using repeated skin exposures. **Fd. Cosmet. Toxicol.**, v. 13, p. 533-540, 1975.

MILLS, O.H.; KLIGMAN, A.M. A human model for assessing comedogenic substances. **Arch. Dermatol.**, v. 118, p. 903-905, 1982.

MILLS, O.H.; BERGER, R. S. Assessing Comedogenicity - Current and Future Trends In: WILLIAM C. WAGGONER (ed). **Clinical Safety and Efficacy Testing of Cosmetics. Cosmetic Science and Technology Series.** New York: Marcel Dekker, p. 83-91, 1990.

MORIZOT F.; LE FUR I.; TSCHACHLER, E. Sensitive skin definition, prevalence and possible causes. **Cosmetics & Toiletries**, v. 113, n.11, p. 59-66, 1998.

MUIZZUDDIN, M.; MARENUS, K. D.; MAES, D. H. Factors defining sensitive skin and its treatment. **American Journal of Contact Dermatitis**, v. 9, n. 3, p.170-175, 1998.

MAILBACH, H. I.; EPSTEIN, W. L. Predictive patch testing for sensitization and irritation. **Am. Perf. Cosm.**, v.80. p.55-56. 1965.

MAILBACH, H. I.; MARZULLI, F. N. **Dermatotoxicology.** 5 ed. Florida: Taylor and Francis Publishers, 1996.

MOSKONITZ, H. R. **Cosmetic Product Testing:** a modern psychophysical approach. New York: Marcel Dekker, 1984.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. **Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment.** 2005. OECD Series on Testing and Assessment, Number 34. ENV/JM/MONO(2005)14, 96pp. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 428 – Skin Absorption: in vitro Method.** Adopted on April 13, 2004.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 452 – Chronic Toxicity Studies**. Adopted 7th September 2009.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 453 – Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies**. Adopted 7th September 2009.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 404 – *In Vitro* Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RhE) Test Method**. Adopted April 13, 2004.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 405 – Acute Eye Irritation/Corrosion**. Adopted April 24, 2002.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 471 - Bacterial Reverse Mutation Test**. Adopted: 21st July 1997.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 473 - *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test**. Adopted: 21st July 1997.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 476 - *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test**. Adopted: 21st July 1997.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 414 - Prenatal Developmental Toxicity Study**. Adopted: 22nd January 2001.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 420 - Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure**. Adopted: 17<sup>th</sup> December 2001.

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.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 425 – Up-and-down procedure**. Adopted on September 21, 1998.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 452 – Acute oral toxicity – Acute toxic class method**. Adopted on March 22, 1996.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 410 – Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study**. Adopted on 12th May 1981.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 412 – Repeated Dose Inhalation Toxicity: 28-day or 14-day Study**. Adopted on 12th May 1981.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 407 – Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents**. Adopted on 27th July 1995.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 411 – Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study**. Adopted on 12th May 1981.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 409 – Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study**. Adopted on 12th May 1981.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 408 – Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents**. Adopted on 21st September 1998.

OECD. Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 413 – Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study**. Adopted on 7th September 2009.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 417 – Toxicokinetics**. Adopted on 22nd July 2010.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals. **OECD 416 – Two-Generation Reproduction Toxicity Study**. Adopted on 22nd January 2001.

PAUWELS, M.; ROGIERS, V. Considerations in the Safety Assessment of Cosmetics. **Business Briefing: Global Cosmetics Manufacturing**, p.16-17, 2004.

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.

PRATIM ROY, P. et al. On two novel parameters for validation of predictive QSAR models. **Molecules**. v. 14, n. 5, p.1660-1701, 2009.

REIFENRATH, W. G.; HAWKINS, G. S.; KURTZ, M. S. Percutaneous penetration and skin retention of topically applied compounds: An in vitro-in vivo study. **J. Pharm. Sci.**, v. 80, p. 526–532, 1991.

RIEGER, M.M. Factors affecting sorption of topically applied substances. In: ZATZ, J.L. (Ed.). **Skin Permeation: fundamentals and application**. Wheaton: Allured, 1993. Cap. 2, p. 33-72.

ROGIERS, V., PAUWELS, M. **Safety assessment of cosmetics in Europe**, Switzerland : Karger, 2008.

RUSSELL, W. M. S., BURCH R. L. **The Principles of Humane Experimental Technique**. New York: Hyperion Books, 1959.

SAMPAIO, S.; RIVITTI, E.A. **Dermatologia**. 3. ed. São Paulo: Artes médicas, 2007.

SCHAEFFER, H.; REDELMEIER, T. E. **Skin Barrier, Principles of Percutaneous Absorption**. Switzerland: Karger, 1996.

SMITH, E. W.; HAIGH, J.M. In vitro systems for assessment of drugs release from topical formulations and transmembrane permeation. In: BRONAUGH, R. L.; MAIBACH, H. I. **Percutaneous absorption: mechanisms, methodology, drug delivery**. 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1989. p. 465-508.

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.

SIMON F. A; RAU A. H. Sensitive skin what sensitive skin is and how to formulate it. **Cosmetics & Toiletries**, v. 109, p.43-50, 1994.

STORK, H. Photo allergy and photosensitivity. **Arch. Dermatol.** v. 91, p. 469-482, 1965.

STOTT, C.W. et al. Evaluation of the phototoxic potential of topically applied agents using long-wave ultraviolet. **J. Invest. Derm.**, v. 55, p. 335-338, 1970.

SCCP - Scientific Committee on Consumer Products. **The SCCP'S notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation**. 2006. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_03j.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_03j.pdf)>. Acesso em: 21 set. 2011.

SCCS - Scientific Committee on Consumer Safety. **The SCCS'S notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation.** 2010. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_s\\_004.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_004.pdf)>. Acesso em: 21 set. 2011.

VALERIO, L. G. Jr. In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 241, n. 3, p. 356-70,

WAGNER, et al. Interrelation of permeation and penetration parameters obtained from in vitro experiments with human skin and skin equivalents. **J. Controlled Rel.**, v. 75, p. 283-295, 2001.

WALKER, A. P. et al. 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.

WAGGONER, W. C. **Clinical safety and efficacy testing of cosmetic.** New York: Marcel Dekker, 1979.

WMA - World Medical Association. **WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects.** 1964. Disponível em: <<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>>. Acesso em: 22 de mar. 2010.

WILKINSON, D.S.; COL. Terminology of contact dermatites. **Acta Dermatovener (Stockolm)**, v. 50, p. 287-292, 1970.

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.

ZATULOVE, A.; KONNERTH, N. A. Comedogenicity testing of cosmetics. **Cutis**, v. 39, n. 6, p.521, 1987.







**Acesse o site  
da ANVISA**

Baixe o leitor de QR  
Code em seu celular e  
fotografe este código

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa  
SIA Trecho 5 - Área especial 57 - Lote 200  
CEP: 71205-050  
Brasília - DF  
Telefone: 61 3462 6000

**[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)**

**[www.twitter.com/anvisa\\_oficial](https://www.twitter.com/anvisa_oficial)**

**Anvisa Atende: 0800-642-9782**

**[ouvidoria@anvisa.gov.br](mailto:ouvidoria@anvisa.gov.br)**



**ANVISA**  
Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Ministério da  
Saúde

