

COMPARACIÓN DE METODOLOGÍAS *IN VITRO* Y CLÍNICA EN LA EVALUACIÓN DE IRRITACIÓN OCULAR DE PRODUCTOS COSMÉTICOS

¹Rivero, Martín N. ¹Lenze, Mariela. ¹Izaguirre, Mercedes. ²Pérez Damonte, Silvia. ¹Wikinski, Silvia. ¹Gutiérrez, M. Laura
¹Instituto de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. ²CLAIM
 mlgutierrez.ebal@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Existe una tendencia mundial a la disminución del uso de animales de laboratorio en el testeo de productos cosméticos. Se han desarrollado diversas metodologías alternativas para evaluación de irritación ocular, entre ellas el método de HET-CAM (*Hen's Egg Test-Chorioallantoid Membrane*).

OBJETIVO

Comparar metodologías *in vitro* y ensayos clínicos en la evaluación de la potencial irritación ocular producida por 18 productos cosméticos (aguas micelares, serums para párpados, shampoos con y sin sulfatos).

METODOLOGÍA

1) *In vitro*: HET-CAM es una metodología alternativa al uso de animales para evaluar irritación ocular, en la que se utiliza como modelo la membrana corioalantoidea (CAM) de huevos de gallina embrionados de 7 a 9 días de incubación. Existen 5 protocolos aceptados internacionalmente: el original descrito por Lüpke (A) y los descriptos por las guías ICCVAM (B), INVITTOX N° 47 (C), INVITTOX N° 96 (D) y sus variantes (D₁ y D₂).

Figura 1. Procedimiento de apertura y tratamiento de huevos embrionados

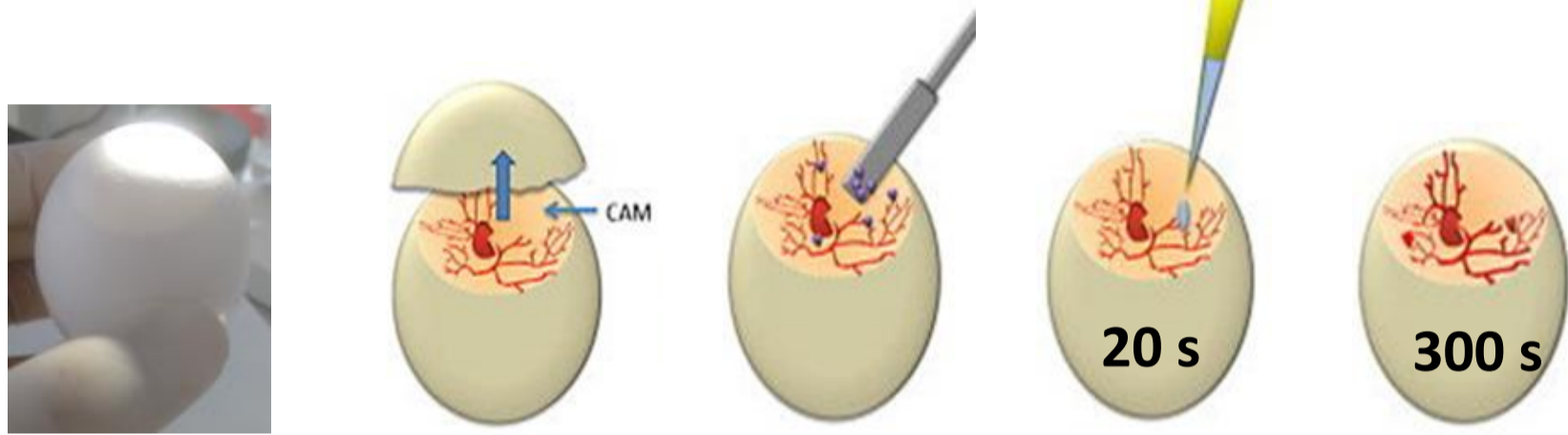


Tabla 1. Metodologías de evaluación y clasificación *in vitro*. Cuantificación por punto final (EPA) y por tiempo de reacción (RTM).

EPA - Cuantificación de irritación (score)				
A y B	Efecto	tiempo (segundos)		
		30	120	300
	Hiperemia (A)/ Lisis (B)	5	3	1
	Hemorragia	7	5	3
	Coagulación	9	7	5
Clasificación				
A	Score	Categoría		
	0 - 0.9	No irritante (NI)		
	1-4.9	Irritante débil (WI)		
	5-8.9	Irritante moderado (MI)		
	9.0 - 21	Irritante severo (SI)		
B	Irritante Severo (SI) si ≥ a 9; No Severo (NS) si < 9			
RTM - Cuantificación de irritación (score)				
C y D	IS= [((301-H).5/300) + ((301-L).7/300) + ((301-C).9/300)]			
	H, L y C: tiempo (seg.) de la aparición de Hemorragia, Lisis y Coagulación.			
Clasificación				
C	Concentración umbral (TH)	IS (10%)	Reacción de severidad	Categoría
	TH < 1%			severo/corrosivo
	1.0 < TH < 2.5	> 16		severo/corrosivo
	2.5 < TH < 10.0	< 16	Severa después de 1 min.	severo/corrosivo
	1.0 < TH < 2.5	< 16		Irritante
	2.5 < TH < 10.0	> 16		Irritante
	2.5 < TH < 10.0	< 16	Severa después de 5 min.	Irritante
	2.5 < TH < 10.0	< 16	Débil o no reacciona	Moderado
	10 < TH	> 16		Moderado
	10 < TH	< 16	Severa	Moderado
	10 < TH	< 10		no/ leve
Clasificación				
D	Score	Categoría		
	0 - 0.9	No irritante (NI)		
	1-4.9	Irritante suave o débil (WI)		
	5-8.9	Irritante moderado (MI)		
	9.0 - 21	Irritante severo (SI)		
	Modelo Q-Score			
	(D2) Q-Score (a)	(D3) Q-Score (b)	Categoría	
	< 1.5	-	No irritante (NI)	
-	≤ 0.8	Irritante suave (WI)		
1.5 ≤ Q < 2	0.8 < Q < 1.2	Irritante moderado (MI)		
-	1.2 ≤ Q < 2	Irritante (I)		
	≥ 2	Irritante severo (SI)		

2) Ensayos clínicos: cada cosmético fue testeado en 10 voluntarios durante 21 días bajo supervisión oftalmológica. Se evaluaron: a) síntomas: ardor, picazón, lagrimeo; b) signos: hiperemia, secreción y anomalías; c) tolerancia local y d) tipo de cristalización de la película lagrimal.

RESULTADOS

Figura 2: imágenes representativas de los controles a los 0 y 300 segundos

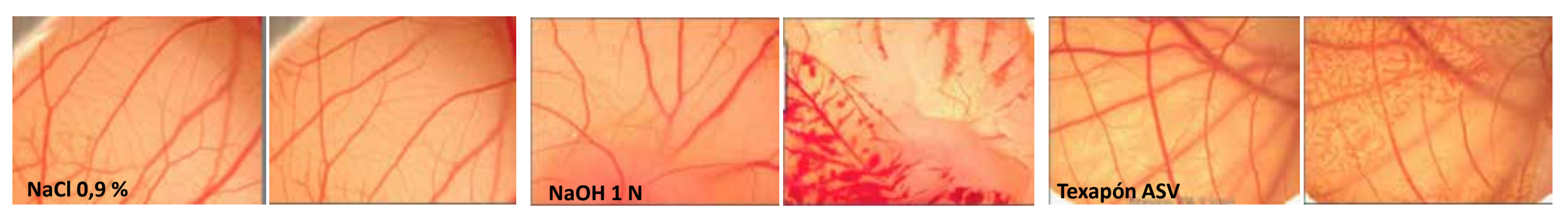


Figura 3: categorización de los 18 productos cosméticos testeados

Categoría 1: no irritante.
 Categoría 2: irritante leve.
 Categoría 3: irritante moderado.
 Categoría 4: irritante severo

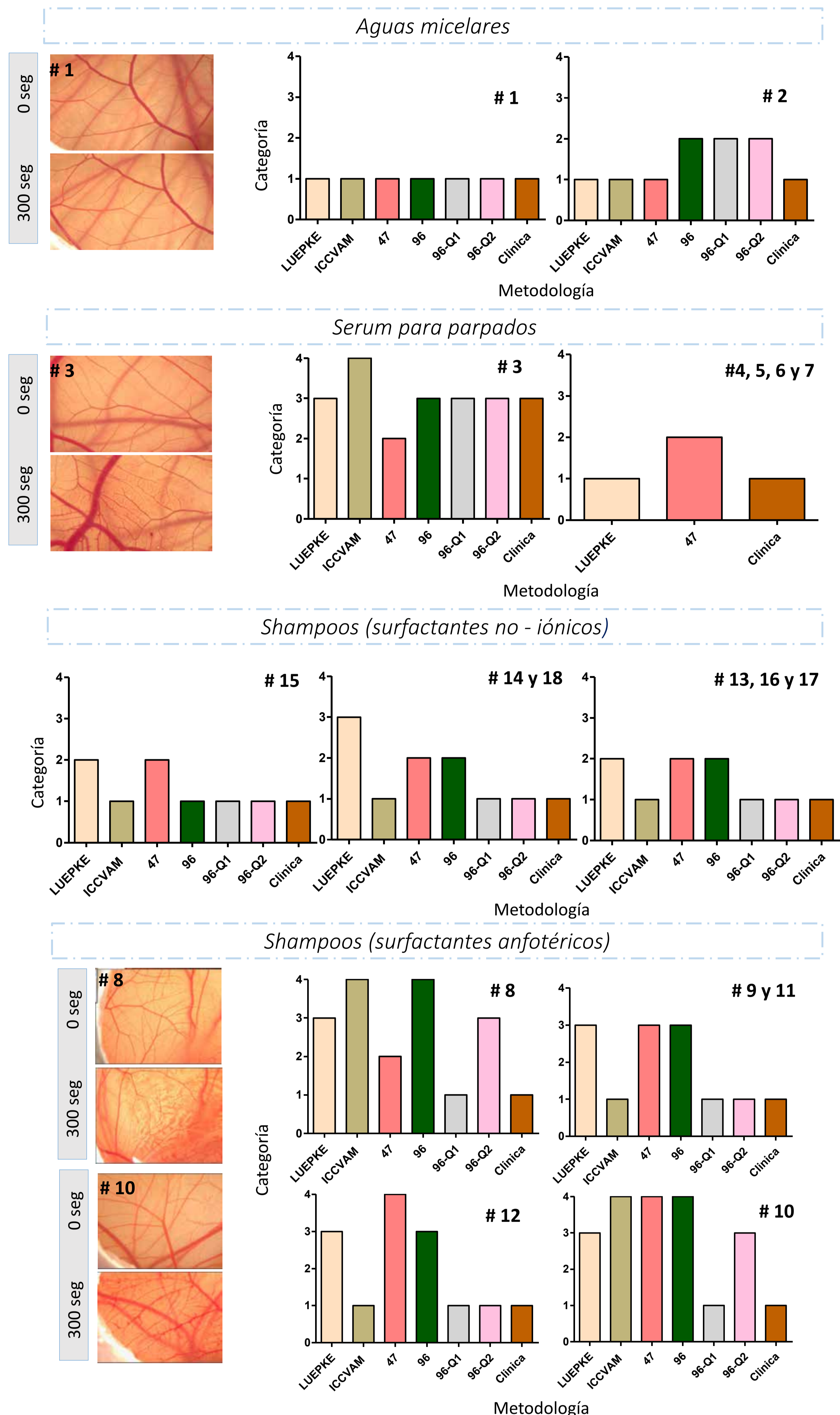
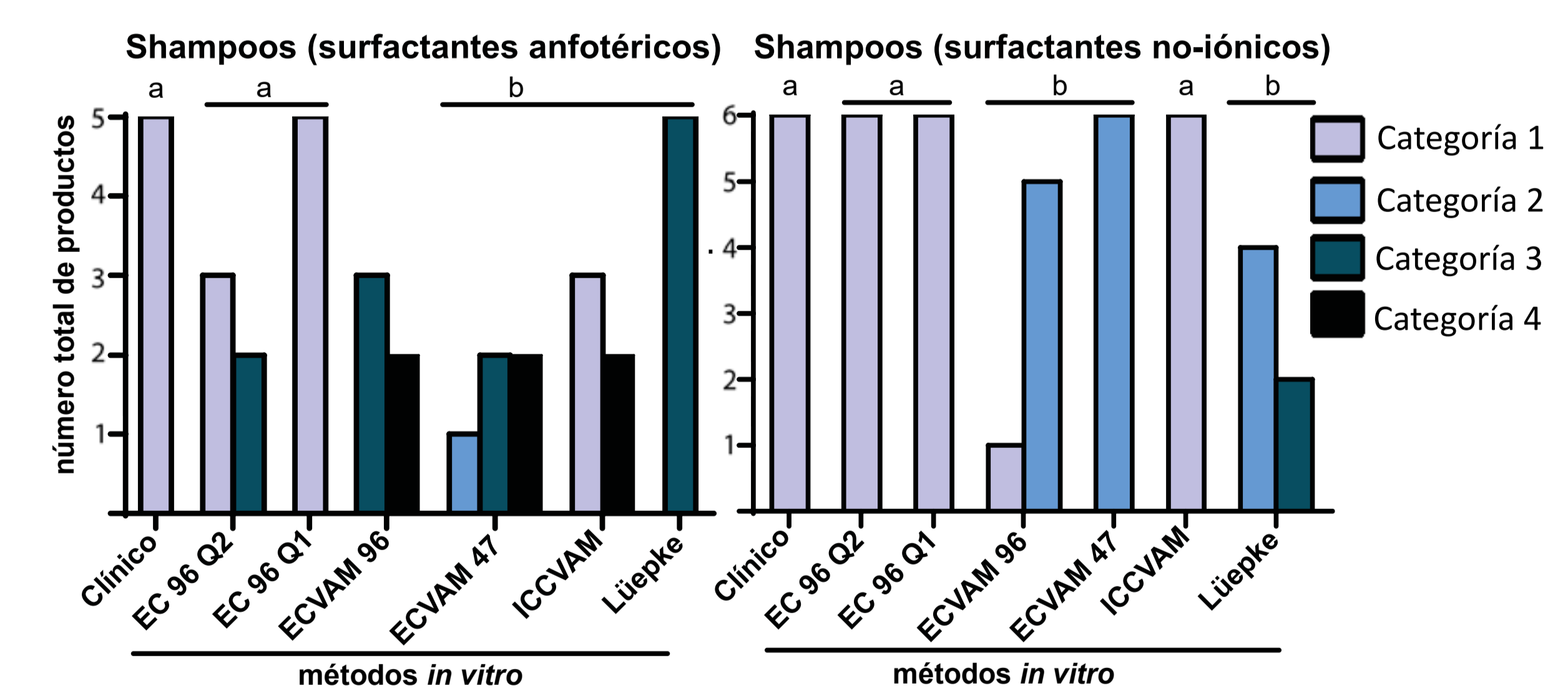


Figura 4: representa la cantidad de shampoos por categoría y metodología



Letras diferentes (a, b) representan diferencias estadísticas respecto al clínico (P < 0,05), test de Durbin-Skillings-Mack; XLSTAT®

CONCLUSIONES

El análisis de los resultados mostró que no se encontraron falsos negativos *in vitro* respecto a los resultados clínicos. El cosmético que resultó irritante en la clínica, también lo fue por todos los protocolos de HET-CAM. Las diferencias encontradas entre los métodos, correlaciona con las diferencias en la composición del producto a evaluar, por lo tanto, concluimos que el protocolo de HET-CAM a utilizar debe ser elegido de acuerdo a la composición del producto a testear.

Este es el primer ensayo comparativo *in vitro* y clínico en Argentina realizado con el fin de sentar las bases para la implementación de métodos alternativos al uso de animales de experimentación.