

# IRRITACION OCULAR Y SU POSIBLE RELACION CON CARACTERISTICAS FISICAS DE EMBELLECEDORES DE PESTAÑAS

María Cecilia B. de Domínguez \*

## RESUMEN

*El tipo de pruebas aplicables a cada producto cosmético debe ser seleccionado de acuerdo a la forma de presentación y el área de aplicación del mismo, con un criterio definido.*

*En el presente trabajo se llevó a cabo el ensayo de Índice de Irritación Ocular Comparativo con Embellecedores para pestañas en crema y se estableció su grado de irritación ocular. Se hicieron las determinaciones físicas y microbiológicas de dichos cosméticos, con el fin de establecer una relación entre los posibles factores de respuesta y los determinantes de la reacción biológica.*

## SUMMARY

The type of tests to be applied to each cosmetic preparation should be selected according to the presentation form and the application area; with a very defined criteria.

In the present work was performed a test of the Ocular Irritation Index in mascara for lashes in cream. A comparative degree of irritation with standards was obtained. Besides this test, physical and microbiological assays were made in order to establish any possible relationship between those parameters and the biological responses originated by the cosmetics.

## INTRODUCCION

La recopilación bibliográfica sobre los diferentes criterios acerca del Control Biológico de los cosméticos y de las materias primas para su elaboración, mostró la imperiosa necesidad de la comprobación

de la inocuidad de estos productos como uno de los factores fundamentales en las primeras etapas de su diseño y como una de las características críticas de calidad biológica en productos cosméticos comercializados en Colombia y para competencia Internacional. Esta revisión sirvió de guía inicial para seleccionar los métodos, los parámetros a controlar, el número de animales a tratar, la graduación de los resultados y el estudio comparativo con patrones. En esta primera etapa experimental se llevó a cabo el Ensayo de Irritación Ocular de embellecedores para pestañas y se fijó el criterio fundamental en los productos para el área de los ojos y los posibles factores de respuestas oculares y se determinaron las características físicas y la calidad microbiológica de dichos cosméticos.

## PARTE EXPERIMENTAL

### MATERIALES Y METODOS

La selección de los animales de experimentación (conejos albinos Nueva Zelanda machos de 2.5 a 3 kg de peso), su mantenimiento, ambientación y comprobación del buen estado de salud permitieron obtener resultados confiables, reproducibles, y aplicables a la predicción de reacciones adversas en el ojo humano; excluyendo además los posibles falsos positivos y negativos.

Las cajas sujetadoras permitieron la inmovilización parcial del animal, para facilitar la absorción del producto y evitar que el animal se lastime y se fatigue.

La escogencia de los productos investigados se hizo de acuerdo a los que pueden presentar mayor incidencia de reacciones adversas como son los cosméticos para los ojos. Por otra parte, por la información bibliográfica de los fabricantes de esta línea y

\* Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. A.A. 14-490. Bogotá.

de los usuarios; se resolvió seleccionar el maquillaje embellecedor para pestañas y dentro de sus numerosas formas de presentación comerciales, la crema en tubo colapsible. El muestreo se hizo al azar y se identificaron las Muestras I y II. (1)

## METODOS

### 1.1. Índice de Irritación Ocular.

En grupos de 6 conejos (previa comprobación de ausencia de lesiones en los ojos), se colocó en el borde palpebral inferior derecho de un extremo a otro una cantidad de los cosméticos investigados y se mantuvieron unidos los párpados formando una copa, por 30 segundos. El ojo izquierdo sirvió como testigo. (2)

Se inmovilizaron los animales por 18 horas y se observaron los ojos y el comportamiento de los animales a los 5 minutos, a las 5, 18 y 24 horas y a los 2, 3, 6, 8, 14, 21 días de aplicado el cosmético.

La evaluación se hizo por examen de fondo de ojo, en las reacciones en conjuntiva, córnea e iris y presencia de lacrimación, secreción y molestias a la luz y el ambiente. Para la detección del daño epitelial y edema en la córnea, se hizo prueba con fluoresceína sódica a las 24 horas de aplicado el cosmético. Con el fin de comparar resultados y de asignar un grado a cada lesión, se hicieron grupos de 2 animales patrón con 0.1 ml de solución de aspirina al 0.04%, 0.1% y 0.2%. (3)

Como medio de comparación con otros métodos, se formaron grupos de animales a los cuales se les aplicaron los productos dispersos en aceite mineral y solución isotónica estériles.

## ENSAYO MICROBIOLÓGICO

Se llevó a cabo con el fin de garantizar la calidad bacteriológica de los cosméticos investigados y para comprobar la ocurrencia o no de lesiones oculares por posible contaminación en los ojos de los animales. Se efectuó la toma y la siembra de los cosméticos y con un aplicador estéril se hizo frotis tanto en el ojo tratado como en el testigo. Los cosméticos se investigaron en suspensión en caldo pectonado adicionado de tween 80 y como medios de cultivo agar nutritivo, caldo de bilis verde brillante, caldo lactosado, medios de Sabouraud y

agar cetrimide. Se incubó por el tiempo y temperatura óptimos y se leyeron los resultados a las 48 y 72 horas y a los 5, 8 y 10 días. (4,5)

### 1.2. Determinación de Características Físicas

Estas pruebas se realizaron con el fin de establecer una relación de las lesiones oculares con la forma de presentación del producto y las propiedades físicas y para predecir el mayor o menor riesgo de una reacción adversa al organismo de acuerdo al tipo de formulación, al tamaño de partícula de los ingredientes y/o forma cristalina. Igualmente para establecer el grado en que afecta la intensidad de la reacción biológica las propiedades de adherencia y extensibilidad del cosmético.

## RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

### 2.1. Índice de Irritación Ocular

Por ensayos preliminares se llegó a establecer el método más sencillo, obviando algunos inconvenientes y posibles alteraciones de los resultados. El empleo del ojo derecho para aplicación de la preparación, mientras que el izquierdo sirvió de testigo de comportamiento es una ventaja para la apreciación de las reacciones en el ojo tratado y comprobación de alteraciones por posibles contaminantes ambientales.

El patrón de comparación, aspirina en solución al 0.1 y 0.2%, presentaron reacciones de irritación similares a las producidas por los cosméticos; aunque con una diferencia muy importante: la ausencia de daños en la córnea; lesiones que sí se presentaron con la Muestra II.

Se descartó el procedimiento de solubilizar o dispersar las muestras en aceite mineral o solución isotónica estériles, puesto que el primero ocasionó por sí solo diferentes grados de irritación y se podría confundir o enmascarar las reacciones propias del cosmético. Se aplicó el producto sin diluir, ya que su forma cremosa así lo permitió y porque ese es el modo usual de utilización.

No se hizo lavado del ojo tratado porque no todos los estudios del tema lo aconsejan, más aún, algunos dicen que se pueden presentar irritaciones adicionales por acción mecánica. (6)

El formar una copa con los párpados por unos segundos, sin presión del globo ocular, hace que el preparado se adhiera a la superficie ocular, pero también permite el barrido por el parpadeo y la crimación posterior (medio de defensa del animal) y las partículas grandes, inmiscibles en el medio acuoso del ojo salen por el mismo mecanismo, evitándose la posible lesión por causa física.

La evaluación de resultados mostró con el preparado I su salida casi inmediata quedando fuera del ojo a las 18 horas, en tanto que la Muestra II se esparce cubriendo homogéneamente todo el globo ocular, después de 30 minutos sale una parte hacia el borde interior del párpado, la mayor cantidad permanece adherida. A las 24 h. el animal mantiene el ojo cerrado y se presenta abundante lacrimación y secreción.

La secuencia en la reacción de la conjuntiva fue congestión, secreción, inflamación y se reporta en la Tabla I.

**Valores de reacción de Congestión:** O: normal. +1: enrojecimiento de bordes palpebrales. +2: color rojo vivo en conjuntiva palpebral, con vascularización en un 75% del limbo esclerótico. +3: Color rojo sangre con vascularización severa y persistente en el limbo y petequias sobre la conjuntiva.

**Valores de Inflamación:** O: Normal. +1: Inflamación ligera, sin cambios de posición de los párpados. +2: Inflamación con eversión parcial del párpado.

**Valores de Secreción:** O: Normal. +1: Secreción dentro del ojo. +2: Secreción abundante sobre pes-

tañas y párpados. +3: Secreción que fluye fuera. La Muestra I congestionó la conjuntiva moderadamente; la II en forma severa, con hemorragia y vascularización fuerte y petequias; además de la inflamación con eversión parcial del párpado superior y secreción.

Las reacciones sobre la córnea aparecen en las Tablas II y III.

Sobre la membrana nictitante, la Muestra I produjo inflamación en grado leve en el 33% de los animales tratados (6); mientras que la Muestra II ocasionó fuerte inflamación en el 83% de los animales.

Sobre el Iris, las Muestras I y II no ocasionaron lesiones.

La muestra I no produjo daños epiteliales de la córnea; en tanto que la II produjo daño epitelial marcado en una gran porción, aproximadamente el 75% del área de la córnea.

Los animales tratados con la Muestra I no presentaron lacrimación, los de la Muestra II la presentan abundantemente.

Tabla I

EXAMEN DE LA CONJUNTIVA

Muestra	Número de animales	OBSERVACION		
		Congestión	Descarga (Secreción)	Inflamación de párpados
I	6	+ 2: 66% animales	o: 100%	0: 83%
		+ 1: 34% "		+ 1: 17%
II	6	+ 3: 66% animales	+ 2: 66%	+ 2: 100%
		+ 2: 34% "	+ 1: 34%	

Tabla II

EXAMEN DE LA CORNEA (opalescencia y/o edema)

Muestra	Número de animales	Observación
I	6	0
II	6	+ 2: 83% de los animales 0: 17% de los animales

0: Normal. 2: Opalescencia moderada en todo el endotelio, el estroma blanco homogéneo.

Tabla III

EXAMEN DE LA CORNEA (epitelio)

Muestra	Número de animales	Observación
I	6	0: 100%
II	6	+ 3: 66% de los animales + 2: 34% de los animales

o: Normal. + 2: Mancha moderada. + 3: Mancha marcada en una gran porción de la córnea (Reacción con fluoresceína).

## La evaluación contra el tiempo

Por el análisis de los parámetros observados y de acuerdo a la evolución de los signos clínicos; con la Muestra I la congestión de la conjuntiva permaneció en intensidad moderada hasta el día tercero, con recuperación total en el 6o. Con la Muestra II, hacia el día 4o. aún la conjuntivitis hemorrágica era severa y el daño epitelial de la córnea tan solo disminuyó en intensidad hacia el día 3o., desapareciendo el día 4o. La conjuntivitis persistió hasta el día 14o.

Por la incidencia (número de reacciones que se presentan/número de reacciones evaluadas) y la persistencia de las lesiones oculares contra el tiempo, se dedujo que con la Muestra I el número de tejidos afectados es menor y lo más importante no hubo lesiones en la córnea; el número de animales afectados también es menor y las lesiones en la conjuntiva son menos severas y persistentes, mientras que la muestra II, hay un mayor número de tejidos afectados incluyendo edema corneal, mayor número de animales afectados y más severidad y persistencia de las lesiones. En todos los casos las lesiones oculares fueron reversibles.

## Ensayo Microbiológico

Con las Muestras I y II no se presentó crecimiento de bacterias, hongos, coliformes totales y *Entamoeba coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto se deduce que las lesiones oculares provocadas por los cosméticos estudiados no se deben a infección microbiana y las Muestras I y II tienen buena calidad bacteriológica.

## 2.2. Ensayos Físicos

Los métodos propuestos para estas determinaciones permitieron en condiciones sencillas y prácticas, establecer las propiedades físicas de los cosméticos investigados y la relación que pudieran tener con los resultados obtenidos en los ensayos biológicos de toxicidad.

### 1- Aspecto físico

La Muestra I es una crema de color negro, homogénea, fluye fácil y uniformemente. Es insoluble en solventes polares y no polares, pero dispersa en

aceite mineral. La Muestra II es una crema color negro homogénea y no fluye uniformemente, es miscible con agua y aceite mineral (aspecto muy importante a tener en cuenta).

### 2- Tipo de Formulación:

La Muestra I es una dispersión de pigmentos en una base oleosa en un solvente lipídico muy volátil. La II es una emulsión O/W (aceite en agua, factor también muy importante para tener en cuenta).

### 3- pH

Muestra I: 6.15. Muestra II: 8.2.

### 4- Tamaño de partícula, forma y distribución.

En agua fría, la Muestra I mostró al microscopio partículas negras, esféricas, micronizadas y menores de 2.5 micras. Otras partículas transparentes esféricas entre 2.5 y 10 micras y además agujas de 10 a 100 micras. En agua fría, la II presentó un pigmento negro, esférico, micronizado de 2.5 micras; otras partículas transparentes de forma irregular de 5 a 10 micras y un colorante azul de forma cristalina de 2.5 a 15 micras y no está uniformemente distribuido. En aceite, aparecen con la Muestra II aglomerados de forma irregular de 5 a 200 micras.

### 5- Adherencia

La muestra I es doblemente más adherente que la Muestra II, con la consecuente posibilidad de formar película oclusiva sobre la piel, pero es la mitad de adherente en relación con la vaselina.

### 6- Extensibilidad

La Muestra I es similar a la vaselina en extensibilidad por unidad de área; mientras que la II es 1.5 veces más extensible.

En el presente trabajo: Se estableció una metodología para el estudio de la irritación ocular de embelecadores de pestañas en crema y se comprobó su toxicidad potencial.

Las pestañinas investigadas son irritantes oculares; la Muestra I moderado en conjuntiva y membrana nictitante. La Muestra II es severo en conjuntiva

(con hemorragia), inflamación y eversión de párpados, opalescencia y edema en la córnea, edema en la membrana nictitante y abundante lacrimación y secreción.

Las dos preparaciones provocan reacciones reversibles, pero la Muestra II presenta mayor incidencia de lesiones, con más persistencia, severidad y gravedad que la Muestra I en tejidos tales como la córnea y la esclerótica.

Por efecto físico, la Muestra I podría agravar la Irritación Ocular por la presencia de agujas de 100 micras y el solvente volátil; pero por las demás características físicas es adecuada al ojo. Sin embargo, podría tener efecto nocivo sobre la piel, hecho que fue confirmado en la presente investigación y que será motivo de una próxima publicación.

La Muestra II, por efecto físico puede agravar e inclusive ser la causa fundamental de las lesiones oculares, por tratarse de una emulsión con fase externa agua que logra una permanencia en el ojo, por la presencia, además, de aglomerados y de cristales de colorante azul y por el pH alcalino.

Se recomienda por lo menos el ensayo biológico de Irritación Ocular para Cosméticos cuya área de aplicación sea cerca de los ojos y/o membranas mucosas; además del estudio comparativo con las características físicas y microbianas tanto del producto terminado, como de algunos de sus ingredientes.

## BIBLIOGRAFIA

1. PASCHEP, F. J. of the Soc. of Cosmet. Chem. **33**, 249, (1982).
2. BECKLEY, J. Amer. Perf. and Cosmet. **80**, 51, (1965).
3. BALDWIN, B. J. of the Soc. of Cosmet. Chem. **24**, 181, (1973).
4. GREENE, C. "Clinical Microbiology and infections diseases of the animals", W.B. Sannders Comapny, **203**, (1984).
5. CUERVO, S., CASTRILLON, H. "Estudio de contaminación microbiana de pestañas del mercado Colombiano". Tesis de grado Q.F., Facultad de Ciencias - Universidad Nacional de Colombia, 1984.
6. DAVIES, R. J. of the Soc., of Cosmet. Chem. **27**, 301 (1976).