



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ANÁLISIS REGULATORIO DE LAS MATERIAS PRIMAS
UTILIZADAS EN COSMÉTICOS DESDE EL ÁMBITO DE
SEGURIDAD”**

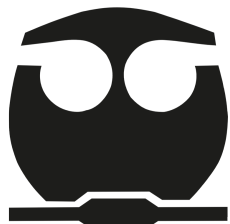
TRABAJO ESCRITO VÍA CURSOS DE EDUCACIÓN CONTINUA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGA

P R E S E N T A:

VALERIE DÍAZ DOMÍNGUEZ



CIUDAD DE MÉXICO

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: AGUILAR CONTRERAS LILIANA

VOCAL: BORJA CALDERON LUZ ANTONIA

SECRETARIO: COLMENARES GUTIERREZ FRANCISCO G.

1er SUPLENTE: MAJLUF TREJO ANDREA SAORI

2º SUPLENTE: ALPIZAR RAMOS MARIA DEL SOCORRO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

FACULTAD DE QUÍMICA,

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ASESOR DEL TEMA: _____

M. en I. LUZ ANTONIA BORJA CALDERÓN

SUSTENTANTE: _____

VALERIE DIAZ DOMINGUEZ

AGRADECIMIENTOS

A mis papás quienes siempre han sido mi pilar de apoyo y los que me han enseñado muchas de las cosas que sé hasta el momento, no tengo más que decir que gracias mamá y papá por estar conmigo en todas las etapas de mi vida, los amo con cada átomo de mi cuerpo

A Abril, quien a pesar de todas las adversidades que ha tenido, ha logrado salir a flote con la cara en alto.

A mis tíos Tete, Toto y Aaron quienes me enseñaron a dar mis primeros pasos y que han estado SIEMPRE presentes en mi vida, los amo con todo mi corazón.

A mis amigos Elías, Rojo, Osmi, Sandy, Itz, Meli y Pablo quienes me han hecho pasar momentos memorables y al final nada es legendario si tus amigos no están ahí para verlo.

A Julio, quien a pesar de todo lo que vivimos siempre estuvo apoyándome en cada paso de la carrera y en cada tropiezo de la vida, gracias...

A Cin con quien he compartido años de vida, sueños, comida, secretos, bromas, cuarto y todo lo que tengo en mi vida, te amo chiquita, gracias por creer en mi y por estar ahí cuando nadie estuvo... Eres la persona más importante en mi vida y espero seguir compartiendo almas en las vidas que sigan.

A mi abuela Enedina y mi abuelo Bernardo, los amo mucho, gracias por ser fuerte abuelo, esto va para ti y mi abuela.

A mi mamá Andy, Lilia y mi abuelo Vicente que a pesar que ya no están aquí, están en algún lugar cuidándome, los extraño y los amo mucho.

Le agradezco a mi asesora Luz Antonia Borja, quien ha estado apoyándome a lo largo de estos años con su retroalimentación y tiempo.

Carpe diem

ÍNDICE DE CONTENIDO, FIGURAS Y TABLAS

ÍNDICE

ÍNDICE DE CONTENIDO, FIGURAS Y TABLAS.....	IV
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Panorama General de la Industria Cosmética.....	2
1.2. Generalidades de los cosméticos	5
1.2.1. Definición	5
1.3. Clasificación de productos cosméticos:.....	8
1.4. Regulación	11
1.4.1. Marco Regulatorio aplicable a productos cosméticos en Estados Unidos, México y Europa.....	11
1.4.1.1 Estados Unidos.....	11
1.4.1.2 Unión Europea.....	18
1.4.1.3 México.....	25
1.5. Evaluación de seguridad de productos cosméticos	33
1.5.1 La piel.....	34
1.5.1.1 Epidermis	34
1.5.1.2 Dermis.....	35
1.5.1.3 Hipodermis	35
1.6. Métodos alternativos validados	36
1.6.1 Irritación dérmica.....	38
1.6.2 Irritación ocular.....	40
1.6.3 Sensibilización dérmica	43
1.6.4. Fototoxicidad.....	48
1.6.5 Fotoalergia.....	51
1.7. Problema por desarrollar	52
2. DISCUSIÓN	54
3. CONCLUSIONES.....	64
4. REFERENCIAS.....	66
5. APÉNDICE	77

Número	Figuras	Página
1	Tamaño de mercado global de belleza y cuidado personal.....	3
2	Zonas geográficas del mercado mundial de cosméticos de 2014 a 2020.....	3
3	Zonas geográficas del mercado mundial de cosméticos del 2021.....	4
4	Valor del mercado desglosado por categoría en México y valor del mercado global 2021.....	4
5	Características que influyen en las decisiones de compra al comprar productos de belleza.....	5
6	Definiciones de cosméticos en México (LGS), Unión Europea (RE) y Estados Unidos (FDA).....	6
7	Diagrama de proceso de revisión de un ingrediente CIR.....	16
8	Evaluación por ingrediente: Nivel de exposición.	22
9	Jerarquía de las legislaciones aplicables a productos cosméticos en México.....	29
10	Regulación aplicable a productos cosméticos en México.....	30
11	Esquema del test de epidermis humana reconstituida.....	39
12	Esquema del test de permeación a la fluoresceína.....	42
13	Esquema del test de córnea reconstituida.....	43
14	Métodos por los que se prueba la sensibilización dérmica.....	44
15	Procedimiento que se realiza para el ensayo de HRIPT para el ensayo de sensibilización dérmica.....	47
16	Escala de signos clínicos y evaluación dermatológica.....	47
17	Esquema del test de fototoxicidad en fibroblastos de ratón.....	49
18	Esquema del test de fototoxicidad <i>in vitro</i> en RhE.....	50
19	Procedimiento que se realiza para el ensayo de HRIPT para el ensayo de fotoalergia.....	52

Número	Tablas	Página
1	Interpretación y clasificación de los resultados del test de RhE.....	39
2	Interpretación y clasificación del test de Permeabilidad y Opacidad de Córnea Bovina (BCOP).	40
3	Interpretación y clasificación del test de permeabilidad FL.....	41
4	Interpretación y clasificación del test de hCE.	42
5	Interpretación y clasificación del test de HRIPT.	48
6	Interpretación de los resultados de la prueba de fototoxicidad en fibroblastos de ratón.	49
7	Interpretación de los resultados del test de fototoxicidad <i>in vitro</i> en RhE.....	51
8	Diferencia entre los reportes finales de cosméticos en USA, UE y México.	57
9	Diferencias y similitudes de los métodos <i>in vitro</i> alternativos.....	59
10	Lista indicativa de denominaciones para los productos objeto de la NOM-141-SSA1/SCFI-2012.	78
11	Clasificación de cosméticos por la forma cosmética de la NOM-141-SSA1/SCFI-2012.....	80
12	Productos que requieren pruebas para demostrar inocuidad.....	81

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Panorama General de la Industria Cosmética

La búsqueda de la belleza es algo innato en el ser humano. Desde la antigüedad, el ser humano ha intentado modificar su aspecto en búsqueda de una imagen más estética. Por este motivo, la cosmética ha estado presente desde los inicios. Todas las grandes civilizaciones han mostrado fuertes tendencias culturales en lo referente al cuidado personal, estando el uso de productos cosméticos relacionados en muchas ocasiones con un estatus económico o con un ritual de carácter social o religioso. El sector cosmético ha sido capaz de sobrevivir a la revolución industrial, logrando evolucionar a una de las industrias más grandes del mundo, lo que permite estar al alcance de una gran parte de la población mundial (Shai *et. al.*, 2009).

De acuerdo con un estudio de IBISWorld en el 2011 la industria cosmética mundial consiguió ingresos de 293,500 millones de dólares, se esperaba que para el 2020 fuera de 344,000 millones de dólares al año (Issimi, 2017), actualmente se espera que en el año 2023 la industria cosmética genere 800,000 millones de dólares (CB Insights, 2019). En un estudio realizado por Euromonitor International se observó que en 2019 el valor del mercado fue de 499,657.8 millones de dólares, un valor por encima del que se tenía estimado para el 2020, según IBISWorld. En la figura 1 se destacan las zonas donde hay un mayor ingreso económico para la industria cosmética; Asia pacífico, Norteamérica y el oeste de Europa son los continentes que más han impulsado el crecimiento de este mercado con valores que se encuentran entre los 3563.7 – 92,853.1 millones de dólares, aproximadamente un 70% de los ingresos brutos. De igual forma como se observa en la figura 2 Asia pacífico se encuentra con un mayor porcentaje de valor de mercado, siguiendo el oeste de Europa y Norteamérica. Las zonas donde la industria cosmética

está más asentada es la región de Asia esto podría deberse a que en Asia los estándares de belleza son más altos, en la figura 2 se muestra que Asia tiene un valor de mercado al 2020 del 39.28%, mientras que para el oeste de Europa es del 25.96% y para Norteamérica es del 22.1%. A pesar de que aún queda lejos de los puestos de cabeza, en la actualidad la industria cosmética latinoamericana es la que más crece a nivel mundial (Euromonitor, 2019).

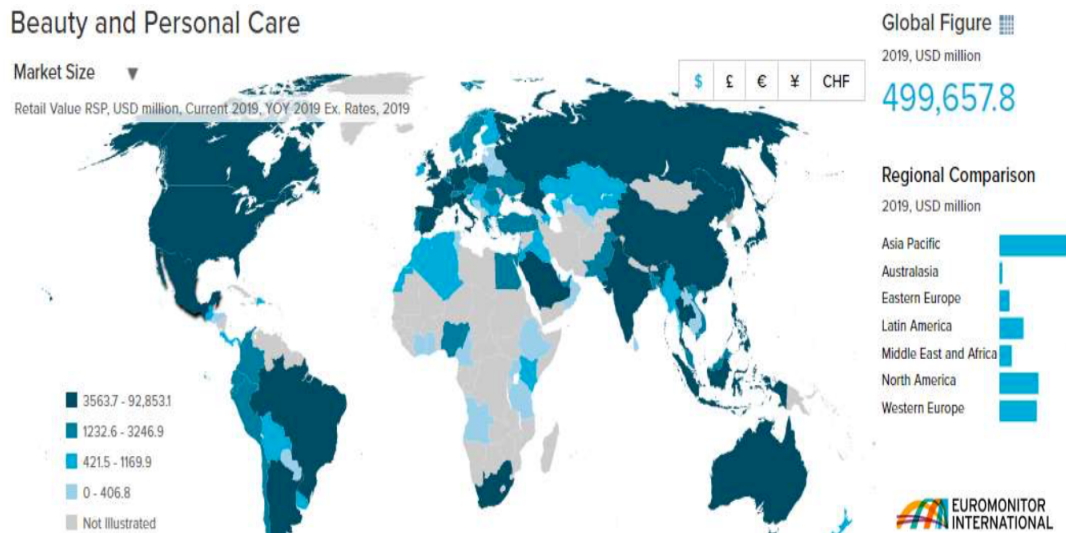


Figura 1. Tamaño de mercado global de belleza y cuidado personal. (Imagen obtenida: Euromonitor International).

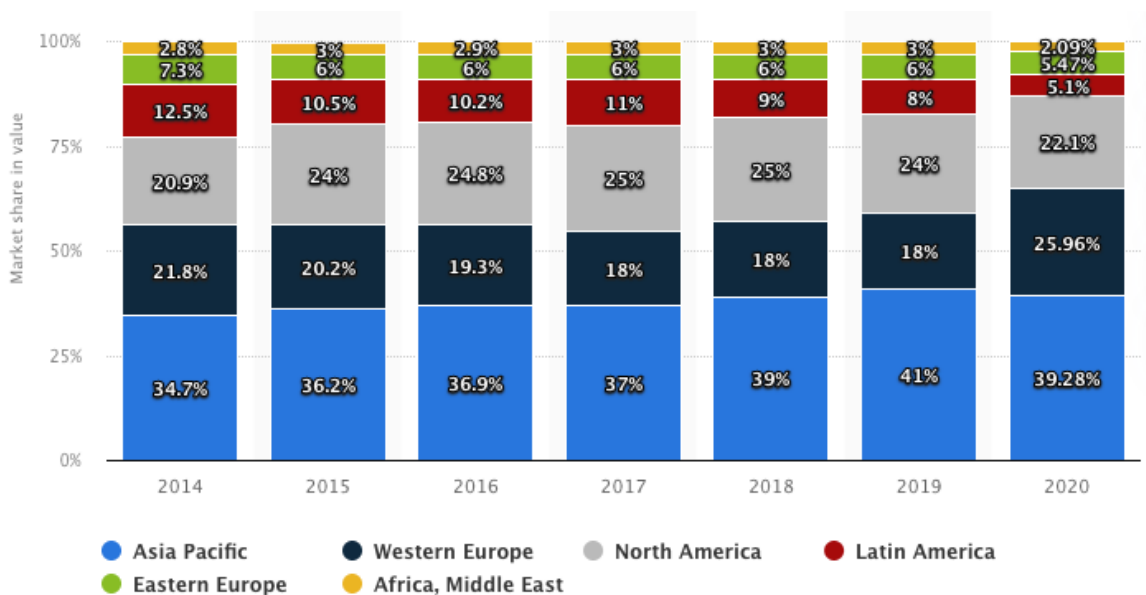


Figura 2. Zonas geográficas del mercado mundial de cosméticos de 2014 a 2020. (Fuente: <https://www.statista.com/statistics/971272/cosmetics-division-market-global/>).

En la figura 3 se puede observar como en el 2021 sigue encabezando la lista Asia con 35%, seguido de Norteamérica con un 26%, Europa con 22%, Sur Asia, Oriente Medio y África del Norte (SAPMENA) con 10% y finalmente América Latina con el 7%.

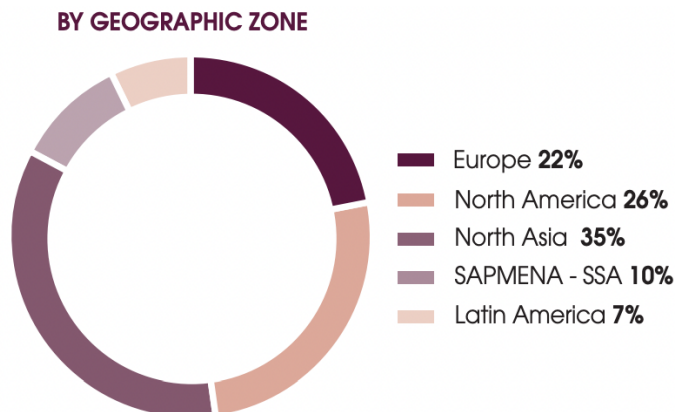


Figura 3. Zonas geográficas del mercado mundial de cosméticos de 2021. (Fuente: https://www.loreal-finance.com/system/files/202203/LOREAL_2021_Universal_Registration_Document_en.pdf)

Según la Cámara Nacional de la Industria de Productos Cosméticos de México (CANIPEC), el valor del mercado mexicano del sector del cuidado personal durante el 2019 fue de \$187,776.3 MDP, para el 2019 incrementó a \$198,042 MDP. En la figura 4 puede observarse que el cuidado de la piel encabeza la lista, seguido del cuidado del cabello, maquillaje, entre otros. Mientras que en la gráfica de la derecha puede observarse que el skincare mantiene su lugar, seguido del cuidado del cabello en el 2021.

Categoría	2017	2018	2019*
Cuidado Personal	179,319	187,776	198,042
Cuidado de la piel	33,728	35,762	37,925
Cuidado del cabello	34,347	35,715	37,823
Maquillaje	29,318	30,896	32,960
Afeitado Masculino	28,014	29,471	30,994
Fragancias	25,287	26,455	27,392
Cuidado Oral	14,248	14,518	15,278
Desodorantes	13,153	13,906	14,690
Baño y ducha	11,623	11,923	12,394
Cuidado del bebé	8,248	8,823	9,325
Protección solar	2,020	2,128	2,293
Depilatorios	1,591	1,673	1,781

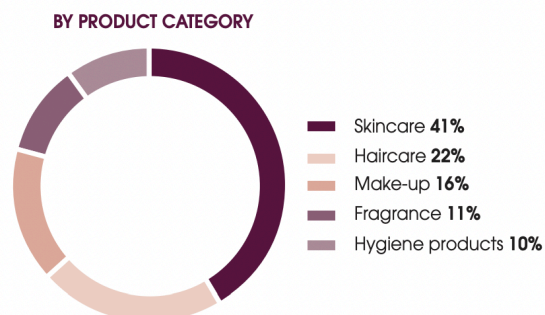


Figura 4. Valor del mercado desglosado por categoría en México y valor del mercado global 2021. (Fuente: Tabla elaborada por Canipec con información de Euromonitor https://www.loreal-finance.com/system/files/202203/LOREAL_2021_Universal_Registration_Document_en.pdf).

Euromonitor hizo un análisis de tendencias, una de las que cabe destacar, va enfocada hacia los consumidores conscientes, en donde se demostró que el bienestar animal recientemente ha ganado impulso en la mente de dicho tipo de personas, como puede observarse en la figura 5.



Figura 5. Características que influyen en las decisiones de compra al comprar productos de belleza. (Fuente: Euromonitor International).

Con tendencias como libre de crueldad, vegano, orgánico, entre otras, la industria de los cosméticos es un gigante en constante cambio que se ha convertido en parte integral de la economía global.

1.2. Generalidades de los cosméticos

1.2.1. Definición

El término cosmético se creó en el siglo XVII a partir de la palabra griega *kosmesis*, que significa “adorno” que proviene de *kosmeo*, que significa “ordenar o arreglar” (Shai *et al.*, 2009).

La definición de cosméticos se puede observar en la figura 6 según las definiciones en México (Ley General de Salud Art. 269), la Unión Europea (Artículo 2 del Reglamento n.º 1223/2009/CE) y Estados Unidos (Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, Sección 201), tienen similitudes en los enunciados, teniendo en común el

precisar el campo de acción de un cosmético, así como hacer énfasis en que no debe ser nocivo para la salud. Al no existir grandes diferencias con respecto a las deficiones según las legislaciones, al momento de exportar los productos se tiene una mayor agilidad, así como mayor facilidad para clasificar los mismos.

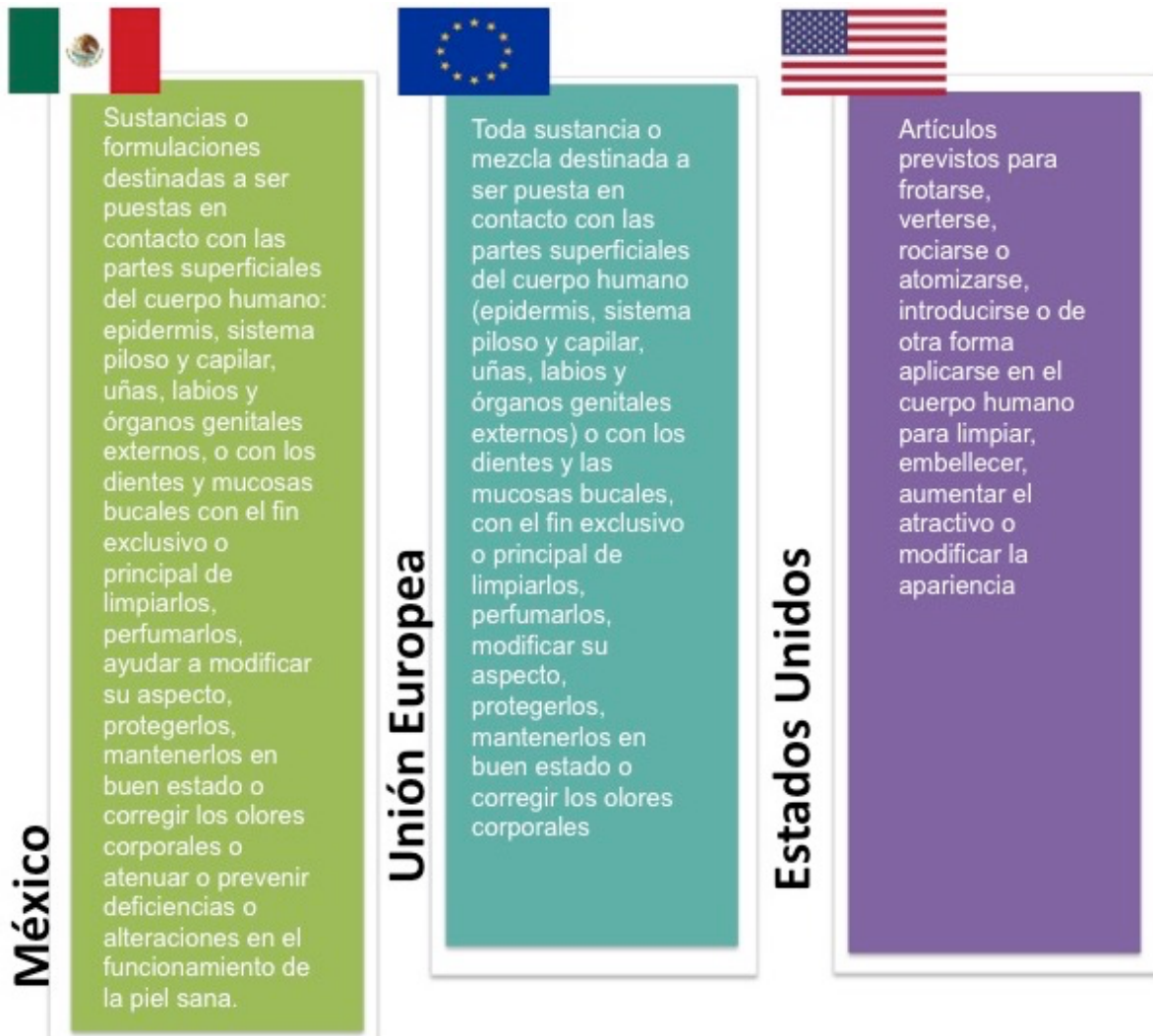


Figura 6. Definición de Cosmético en México (Ley General de Salud), Unión Europea (Reglamento CE No 1223/2009) y Estados Unidos (Food and Drug Administration)

Los cosméticos están formados por los siguientes componentes: ingrediente activo, el vehículo y aditivos (conservadores, abrasivos, humectantes, espumantes, aglutinantes, emolientes, hidratantes, tensoactivos, entre otros).

El ingrediente activo es la sustancia o las sustancias que no tienen acción terapéutica y puede cumplir con el claim del producto. Sin embargo, el activo no se encuentra por sí solo, debe incorporarse a la base de la preparación; ej. sustancias que aclaran la piel (niacinamida, ácido kójico, hidroquinona*, etc.) *No está permitida en México.

El vehículo es el componente líquido mayoritario del cosmético y puede ser el encargado de mezclar o disolver el ingrediente activo. Puede estar compuesto por una fase acuosa, una fase oleosa, o una mezcla de las anteriores mencionadas, las cuales son unidas mediante un tensoactivo (Shai *et. al.*, 2009).

Los aditivos tienen múltiples funciones, entre ellas está el mantener la estabilidad de la fórmula mediante compuestos que se añaden a un cosmético para evitar su contaminación o deterioro (conservadores), así como mejorar las características organolépticas del cosmético, entre otras de las funciones que se mencionan a continuación:

- a) Los conservadores son agentes químicos que se adicionan a los productos con la función de prevenir el crecimiento de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras); ej. Parabenos, fenoxietanol, metilisotiazolinona, alcohol bencílico, etc.) (NOM-089-SSA1-1994).
- b) Los colorantes se usan para hacer más atractivo un cosmético, proporcionando un color agradable al producto y determinan su aspecto final. Los perfumes proporcionan sensación agradable al olfato, enmascarando el olor de algún otro ingrediente (Badía & García, 2012).
- c) Los modificadores reológicos son ingredientes que aumentan la viscosidad de la formulación y pueden mejorar la estabilidad de una emulsión, gel o suspensión, ej. goma xantana, goma arábica, hidroxietilcelulosa (HEC),

hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa (CMC), ácido acrílico/crospolímero VP, carbómero, entre otros.

- d) Los ajustadores de pH son ácidos o bases que ayudan a llevar a un valor determinado de pH final al producto, buscando que se acerque al pH de la piel o la neutralidad. Para acidificar se usa ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, etc. y para alcalinizar normalmente se usa trietanolamina.
- e) Los agentes quelantes son compuestos capaces de conjugarse con iones que se encuentran en la formulación del cosmético. El más utilizado es la sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).
- f) Los hidratantes son compuestos con gran afinidad por el agua, que captan el agua del medio ambiente, ej. glicerina, propilenglicol, sorbitol, urea, etc.
- g) Los emolientes son agentes oclusivos, que impiden la liberación del agua de la piel que son afines a la bicapa lipídica, evitando pérdida del agua, ej. dimeticona, petrolato, aceite mineral, manteca de karité, etc.

1.3. Clasificación de productos cosméticos:

De acuerdo con el Capítulo I del Artículo 187 del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (RCSPS) y la NOM-141-SSA1/SCFI-2012 los productos de perfumería y belleza se clasifican de la siguiente manera:

- I. Productos destinados a modificar el olor del cuerpo humano:
 - a. Antitranspirante.
 - b. Desodorante.
 - c. Perfume.

- II. Productos o preparaciones de uso externo, destinados a preservar, mejorar o modificar la apariencia personal:

CLASIFICACIÓN POR USO	DENOMINACIÓN GENÉRICA
PRODUCTOS PARA EL CABELLO	
	Acondicionador
	Alaciador
	Brillo/Gloss/Glitter
	Decolorante
	Desvanecedor de canas
	Enjuage
	Estilizador
	Fijador
	Máscara o Mascarilla
	Modelador
	Matizador/Tonalizante
	Ondulador
	Permanente
	Shampoo/Champú
	Tinte/Colorante/coloración
	Protector/ Tratamiento
	Protector o Filtro solar
	Retocador de raíces
PRODUCTO PARA LOS OJOS Y CEJAS	
	Adhesivos para pestañas postizas
	Brillo/Gloss/Glitter
	Corrector
	Delineador
	Desmaquillante
	Máscara
	Sombras
	Tratamiento
PRODUCTO PARA LOS LABIOS	
	Brillo/Gloss/Glitter
	Delineador
	Desmaquillante
	Labial
	Protector o Filtro Solar
PRODUCTOS DE USO FACIAL Y/O CORPORAL	
	Aclarador o despigmentante de la piel
	Agua de colonia
	Agua de tocador

	Antitranspirante
	Autobronceador (Bronceado sin sol)
	Baños de burbujas o baños perfumados
	Brillo/Glitter
	Bronceado
	Colonia
	Corrector
	Decolorante del vello superfluo
	Depilatorio
	Desmaquillante
	Desodorante
	Dermolimpiador
	Epilatorio
	Exfoliante
	Limpiadora o Limpiador
	Maquillaje
	Mascarilla
	Perfume
	Protector o filtro solar
	Repelentes de insectos
	Rubor
	Sales para baño
	Splash
	Talco
	Tratamiento
PRODUCTOS PARA MANOS Y UÑAS	
	Adhesivo para uñas postizas
	Barniz o esmalte
	Disolvente de esmalte o barniz
	Endurecedor
	Exfoliante o exfoliador Removedor de cutícula
	Removedor o quita esmalte o barniz
PRODUCTOS DE AROMACOLOGIA O AROMALOGIA SEGUN SU FORMA COSMETICA	

De acuerdo con la NOM-141-SSA1/SCFI-2012 Apéndice informativo "A" los productos cosméticos pueden ser clasificados según su:

- Uso.
- Forma cosmética.

Consultar en el Apéndice Tabla 10 la clasificación de la NOM-141-SSA1/SCFI-2012.

1.4. Regulación

1.4.1. Marco Regulatorio aplicable a productos cosméticos en Estados Unidos, México y Europa

Los cosméticos al estar en contacto externo con alguna parte del cuerpo humano los hace sujetos a la regulación sanitaria, por lo que cada país establece sus propias normas para así consolidar la seguridad de un producto cosmético.

1.4.1.1 Estados Unidos

Para la industria cosmética en Estados Unidos la ley no exige que los productos e ingredientes cosméticos distintos a los colorantes tengan la aprobación de la FDA antes de ingresar al mercado, pero hay leyes que se aplican a los cosméticos que se ofrecen en el comercio interestatal. Las dos leyes más importantes relacionadas con los cosméticos que se comercializan en Estados Unidos son la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos (FD&C, Federal Food, Drug and Cosmetic Act) y la Ley de Envasado y Etiquetado Correctos (FPLA, Fair Packaging and Labeling Act). La FDA regula los cosméticos de conformidad con estas leyes. En Estados Unidos las leyes se promulgan por el Congreso, y es éste quien autoriza a ciertas agencias como la FDA para crear regulaciones. Los productos cosméticos no necesitan una preaprobación de FDA, con excepción de los colorantes, sin embargo, la FDA puede iniciar acciones legales si el producto no está en conformidad con la ley .

En general, con excepción de los colorantes y los ingredientes que están prohibidos ó restringidos por regulación, las empresas pueden usar cualquier activo en la formulación de un cosmético siempre que:

- El ingrediente y el producto cosmético final sea seguro en las condiciones de uso habituales o del etiquetado.
- El producto esté debidamente etiquetado.
- El apropiado uso del ingrediente, que no sea adulterado ó etiquetado.

La Ley FD&C no requiere específicamente el uso de animales en las pruebas de seguridad de los cosméticos, ni los somete a la aprobación previa a la comercialización por la FDA. Sin embargo, la agencia siempre ha aconsejado a los fabricantes de cosméticos que empleen todas las pruebas que sean apropiadas y efectivas para corroborar la seguridad de sus productos. Sigue siendo responsabilidad del fabricante comprobarla tanto a nivel de los ingredientes como de los productos cosméticos terminados antes de su comercialización. CIR (Cosmetic Ingredients Review) es el organismo independiente encargado de evaluar la seguridad de los ingredientes que se utilizan en los productos cosméticos. El CIR no tiene la autoridad regulatoria para obligar a una empresa a retirar un producto del mercado, pero el CIR puede notificar a la FDA y a la Industria sobre inquietudes de seguridad específicas y recomienda que se lleven a cabo las investigaciones y acciones apropiadas para abordar las inquietudes (Boyer *et. al.*, 2017). La FDA puede y toma medidas cuando se identifica un peligro claro, incluida la solicitud de retiro voluntario de las empresas involucradas (FDA, 2017).

a.1) Encargados CIR

Comité directivo CIR

El comité directivo del CIR proporciona la política general y la dirección del organismo. Incluye 3 personas representativas de la Industria y 4 representativos públicos. Los representativos de la industria incluyen al Presidente y Director Ejecutivo del Consejo de Productos de Cuidado Personal (PCPC), quien se desempeña como Presidente del Comité Directivo, de igual forma desempeña el papel de Presidente del Comité de Apoyo y Ciencia CIR de productos de cuidado personal (CIR SSC) y como el Vicepresidente Ejecutivo de Ciencia de productos de cuidado personal. Los representativos públicos incluyen un dermatólogo que representa la Academia Americana de Dermatología (AAD), un toxicólogo como representante de la Sociedad de Toxicología (SOT), el representante del panel de expertos del CIR y un consumidor representante de la Federación Americana de Consumidores (CFA) (Boyer *et. al.*, 2017).

Paneles expertos CIR

El panel de expertos del CIR es el órgano encargado de tomar las decisiones del programa CIR. El panel de expertos es nombrado con base en las nominaciones principalmente de la SOT, la AAD y la ACS, deben tener experiencia necesaria para la evaluación de la seguridad de los ingredientes cosméticos y no deben involucrarse financieramente con la industria de productos para el cuidado personal.

El panel consiste en 2 equipos. Cada uno es liderado por un dermatólogo reconocido y deben incluir al menos un toxicólogo y un químico.

Los miembros del Panel de Revisión de Ingredientes Cosméticos también incluyen 3 miembros de enlace sin derecho a voto designados por la FDA, CFA y PCPC para representar los intereses del gobierno, los consumidores y la industria, respectivamente,

en todas las deliberaciones de las reuniones del panel. Cada uno de estos representantes sirve como conducto de información entre el panel de expertos y las partes interesadas.

a.2) Proceso de revisión de los ingredientes CIR

El proceso de revisión empieza con el anuncio de los ingredientes prioritarios. Un analista/escritor del CIR asignado a un ingrediente o un grupo de ingredientes, realiza una exhaustiva búsqueda de artículos científicos y data abierta con el fin de resumir los estudios relevantes en un informe preliminar denominado revisión de la literatura científica (SLR) para la seguridad cosmética. El CIR publica el SLR online por 60 días para la revisión pública, el escritor/analista recopila la información recibida durante el periodo de comentario público y el borrador del reporte (DR) se presenta al panel. El panel revisa el DR y decide cómo proceder.

En las reuniones donde se une el panel de expertos, se muestran informes y de esos informes se hacen presentaciones las cuales incluyen el estado de los métodos de sensibilización de pruebas *in vitro*, cultivo de células, difusión dermal de barrera y una actualización de las cuestiones normativas y de investigación en curso relativas a los productos químicos. Las presentaciones se publican en la página del CIR, al igual que los resúmenes de las mismas en los anuncios posteriores a la reunión (PMA) del CIR.

Después de las sesiones informativas, los 2 equipos de panelistas se separan y se reúnen en salas separadas para analizar todos los ingredientes que se están revisando. Cada equipo llega a sus propias conclusiones sobre cada ingrediente o grupo de ingredientes. En el segundo día, los equipos se vuelven a reunir como grupo y resuelven diferencias importantes en las conclusiones o inquietudes que puedan tener sobre cada

ingrediente o grupo. Luego, los miembros votantes del panel votan para determinar las conclusiones generales de la reunión. El panel de expertos decide si cada ingrediente o grupo de ingredientes es seguro con calificaciones o inseguro bajo cada condición de uso prevista, o si los datos no son suficientes para respaldar una determinación de seguridad. Si los datos no son suficientes, el panel emite un anuncio de datos insuficientes (IDA), en donde se especifica la información adicional requerida y se publica en espera de recibirla. El panel después determina si la información recabada es suficiente o aún se requiere más.

Si los datos son insuficientes para respaldar una determinación de inocuidad y no hay un uso informado del ingrediente en la base de datos del programa de registro cosmético voluntario (VCRP), dicho producto se coloca en la categoría "Sin uso informado". Si hay usos informados y los datos continúan siendo insuficientes durante 2 años, el ingrediente se coloca en la categoría "Uso no admitido".

El panel emite un informe tentativo (TR) con la conclusión de que los datos son o no suficientes, en la discusión se justifica la conclusión del panel. El TR se publica 60 días y se revisa para ver si hay comentarios, después se emite un informe final (FR). El FR presenta conclusiones y recomendaciones del panel de expertos con justificación. Finalmente, el director del CIR envía una copia del FR y PMA a la FDA, en donde se resume las discusiones y decisiones del panel después de cada reunión. Además el CIR envía cada FR como manuscrito al *International Journal of Toxicology* (IJT). Todo el proceso descrito anteriormente se encuentra resumido en la figura 7 (Boyer *et. al.*, 2017).

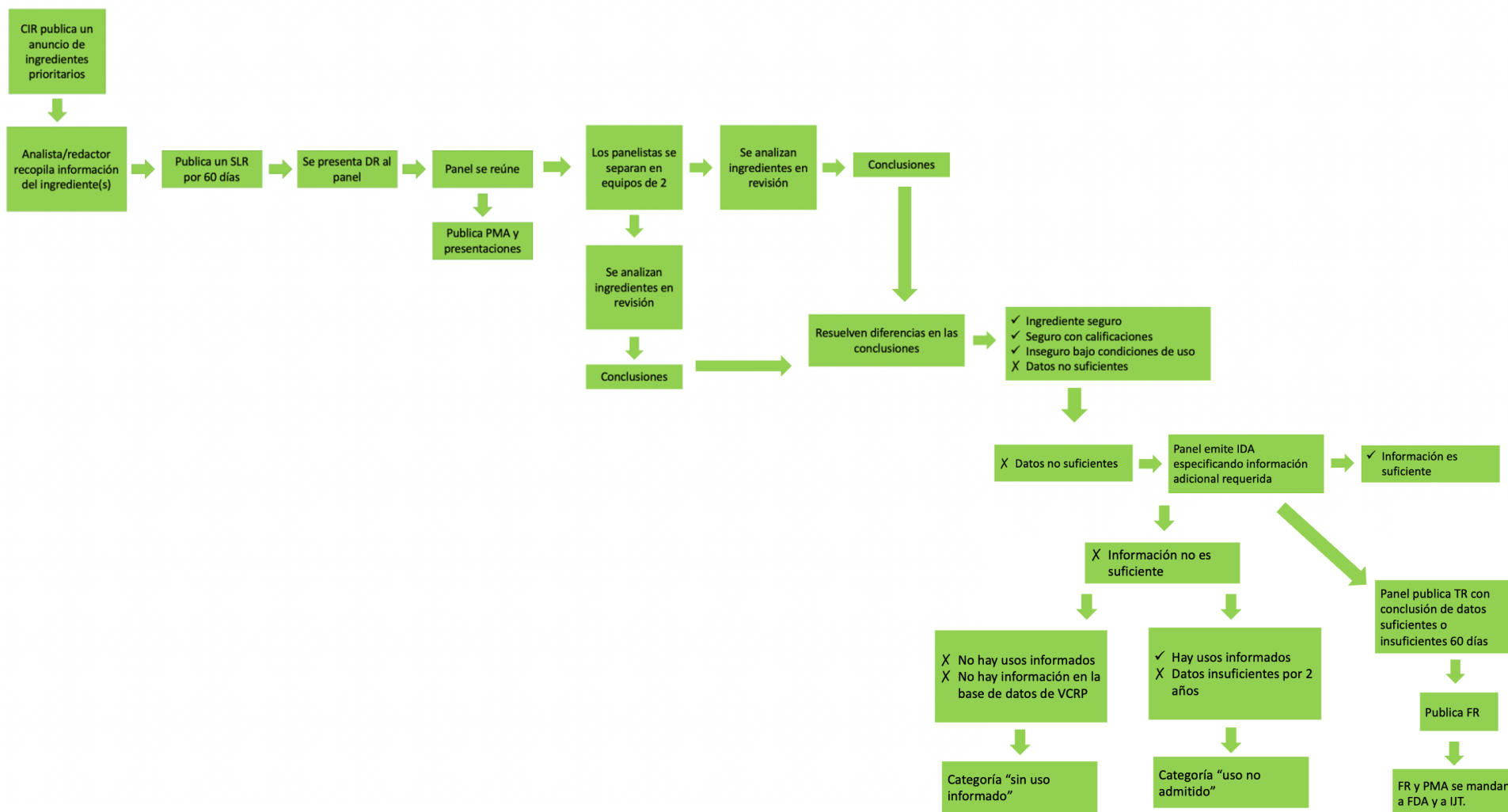


Figura 7. Diagrama de proceso de revisión de un ingrediente CIR. CIR: Cosmetic Ingredient Review; SLR: Review de literatura científica; DR: Borrador; PMA: Anuncios post-reunión; IDA: Anuncio de datos insuficientes; TR: Reporte tentativo; FR: Reporte final; IJT: Diario Internacional de Toxicología.

a.3) Reporte final de los Ingredientes

El reporte final debe contener una introducción del ingrediente a evaluar en donde se describe mayormente la naturaleza química de éste, así como algunas recomendaciones y conclusiones del panel de expertos. También se incluye una lista de los compuestos que son químicamente similares, para que pueda utilizar las mismas especificaciones del reporte final.

Después se encuentra la sección química, en donde se describen más a fondo las propiedades físicas y químicas del ingrediente, pH indicado, punto de fusión, color, olor, viscosidad, solubilidad, la concentración a la que tiene actividad, entre otras características.

En otra parte del reporte final se menciona el método de manufactura, en donde se describe la síntesis química por la que atraviesa la materia prima para llegar a su forma final. Otra sección analiza las impurezas que puede contener la materia prima, con el fin de delimitar las trazas de éstas para mantener un control de calidad.

En la sección de uso se indica el empleo que se le puede dar a la materia prima, ya sea como cosmético o una aplicación fuera de los mismos.

La sección que más interesa es donde se realizan las evaluaciones toxicocinéticas, toxicidad aguda, toxicidad dérmica, toxicidad crónica, estudios de irritación dérmica, estudios de sensibilización dérmica, fotosensibilización, irritación ocular, irritación en membrana mucosa, genotoxicidad, carcinogenicidad. Así como la descripción de los modelos de estudio de las pruebas, es decir, ensayos en células de mamíferos, bacterias, en animales y en humanos.

Finalmente hay una discusión, en donde se argumentan los resultados de las pruebas mencionadas anteriormente para llegar a la conclusión de la materia prima, en donde se describe si puede ser usada sin restricciones, con restricciones o simplemente se prohíbe su uso.

1.4.1.2 Unión Europea

Para la Industria cosmética europea el encargado de aprobar las legislaciones es el Parlamento Europeo, el cual es el que emite los reglamentos que se encargan de regular el mercado interno el cual incluye ámbitos de política social, cohesión económica, social y territorial, protección de consumidores, asuntos comunes de seguridad en materia de salud pública, entre otros.

En Europa se tiene un dossier expediente de información del producto (DIP) que contiene información como:

- Descripción del producto.
- Evaluación de la seguridad.
- Descripción de los métodos de fabricación y una declaración de conformidad con las BPF.
- Cuando la naturaleza o los efectos del producto cosmético lo justifiquen, la prueba del efecto reclamado por el producto cosmético (prueba de los claims).
- Acreditación del cumplimiento de la regulación sobre la prohibición de pruebas con animales.

Existe una plataforma llamada Cosmetic Ingredient Database (CosIng), que se encarga de enlistar ingredientes prohibidos y restringidos, además de proporcionar un glosario

que contiene nombres comunes de los ingredientes, proporcionar información histórica de los componentes o materiales, esto debido a que tiene acceso al Comité Científico de Seguridad del Consumidor (SCCS) (Boyer *et al.*, 2017).

El SCCS son los encargados de hacer toda una evaluación según la frecuencia de uso de los ingredientes en donde se recopila la siguiente información:

- Uso de datos físicos/químicos.
- Toxicidad aguda.
- Absorción/penetración dérmica.
- Irritación dérmica.
- Irritación de la membrana mucosa.
- Sensibilización de la piel.
- Toxicidad subcrónica.
- Toxicidad genética.
- Fototoxicidad y fotogenotoxicidad.
- Datos humanos.

El artículo 10 del Reglamento (CE) No. 1223/2009 del Parlamento establece que antes de la comercialización del producto el responsable de éste se encargará de que haya sido sometido a una evaluación de seguridad para examinar los datos procedentes de todas las fuentes existentes. El informe se actualizará con la información pertinente que se genere tras la introducción del producto en el mercado.

Por otra parte, en el Artículo 18 del mismo reglamento, se menciona la prohibición de: la introducción de cosméticos cuya formulación final haya sido objeto de ensayos en animales, así como la introducción en el mercado de productos cosméticos que

contengan ingredientes o combinaciones de ingredientes que hayan sido objeto de ensayos en animales.

En el mismo artículo se señala que en circunstancias excepcionales donde surjan dudas fundamentadas sobre la seguridad de un ingrediente cosmético existente, un estado miembro podrá solicitar a la comisión que se aplique una excepción. Dicha solicitud debe contener una evaluación de la situación e indicar las medidas pertinentes, en caso de ser autorizada, se deberán especificar las condiciones de la excepción referente a objetivos específicos, duración e información de los resultados. La excepción se concederá sólo si se cumplen las siguientes consideraciones:

- El uso del ingrediente no puede sustituirse por otro capaz de desempeñar una función similar.
- Se debe explicar el problema específico para la salud humana y justificar la necesidad de realizar ensayos con animales, apoyado por una propuesta base de protocolo de investigación detallado para la evaluación.

Debido a lo anterior mencionado se ha buscado una forma de hacer una evaluación de seguridad (Risk assesment), esta valoración sirve para saber cómo se va conformando el producto con el fin de conocer si la formulación se mantiene segura (WHO, 2000).

Las consideraciones a tomar:

- La fórmula propuesta debe ser evaluada bajo parámetros toxicológicos y de exposición para estimar el riesgo existente al ser utilizado.
- La evaluación de la fórmula es el análisis de cada ingrediente y finalmente en su conjunto.

- El riesgo se define como la probabilidad de daño en relación con la dosis y la exposición.

El proceso de evaluación tiene 3 etapas:

1. Identificación del peligro.
2. Dosis-Respuesta.
3. Evaluación de la exposición.

La información fundamental para el análisis de riesgo consta de la exposición, es decir, de la cantidad de producto tomado para una aplicación, frecuencia de uso, el modo de uso, es decir, el uso propuesto del producto ayuda a conocer las rutas y la superficie de exposición, público al que va dirigido el producto (bebés, niños, adolescentes, adultos) y conocer las posibles exposiciones secundarias y finalmente el nivel de exposición del consumidor, el cual se calcula como dosis/por superficie por día ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{día}$). En la Figura 8 se observan los factores clave de los niveles de exposición del consumidor al día, estos toman en consideración la cantidad de producto usado por aplicación, es decir, cuánto producto uso al día, la cantidad del ingrediente en la formula, es decir, cuanto del ingrediente al día esta siendo expuesto al usuario y la frecuencia de uso del producto, así como el factor de retención el cual es el mayor nivel de absorción que se puede tener de un ingrediente y la superficie de contacto.

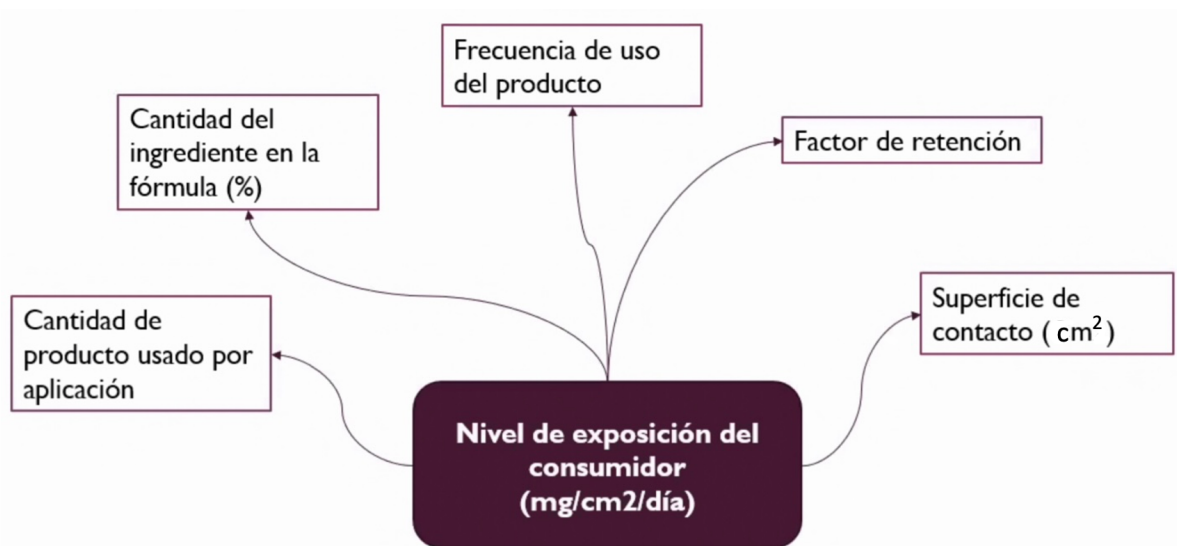


Figura 8. Evaluación por ingrediente: nivel de exposición del consumidor. (Imagen obtenida: Columba G. Hernández Ruiz).

Estos elementos dan el nivel de exposición del consumidor al día, una vez que se tiene este dato y se contemplan todos los factores, se puede sacar el margen de seguridad del ingrediente (MoS) con la siguiente ecuación:

$$MoS = \frac{NOAEL_{(nivel\ donde\ no\ se\ observa\ efecto\ adverso)}}{Exposición\ sistémica\ (SED)}$$

Generalmente, la dosis de exposición sistémica (SED) de un ingrediente cosmético se estima teniendo en cuenta la cantidad del producto cosmético terminado aplicado por día, la concentración de la sustancia en el producto cosmético terminado, la absorción dérmica de esa sustancia en particular y una media valor del peso corporal humano, la cual se saca con la siguiente ecuación:

$$SED = A \times C \times Ed$$

A= Absorción dérmica (%)

C= Concentración del ingrediente en el producto final (%)

Ed= Exposición dérmica (mg/kg peso corporal/día)

Existen tablas para calcular el nivel donde no se observa efecto adverso (NOAEL) de cada uno de los ingredientes. El NOAEL es el nivel donde no se observa ningún efecto adverso, es decir, se está en un nivel seguro, es un punto donde hasta aquí ya se empieza a tener un riesgo en la exposición al ingrediente.

El estudio de NOAEL es la dosis más alta probada en un estudio sin evidencia de un efecto adverso en el experimento en particular y la siguiente dosis más alta que muestra un efecto adverso significativo (estadísticamente) es el nivel de efecto adverso observado más bajo (LOAEL). El NOAEL se ve afectado por la selección del rango de dosis y por el poder (estadístico) del estudio. Los estudios con bajo poder estadístico (p. ej., grupos pequeños, métodos insensibles, gran dispersión biológica o metodológica) generalmente tienden a proporcionar NOAEL más altos que los estudios con alto poder estadístico. Si hay un efecto estadísticamente significativo en todos los niveles de dosis, la dosis más baja utilizada en el estudio (es decir, el LOAEL) puede seleccionarse como la dosis, aunque una dosis más baja aún podría causar un efecto adverso. Por el contrario, si no se observa ningún efecto estadísticamente significativo en ninguno de los niveles de dosis, se selecciona la dosis más alta como NOAEL.

Cabe señalar que, en general, la identificación de un NOAEL no es una decisión puramente estadística. El juicio de expertos también es parte del proceso de toma de decisiones y diferentes evaluadores pueden llegar a decisiones diferentes.

Cuando el MoS es ≥ 100 se puede considerar seguro. Si el MoS es < 100 se considera que el ingrediente tiene algún riesgo. Es importante resaltar que todos los ingredientes de la fórmula deben ser superiores a 100. Si el valor de MoS de alguno de los excipientes está por debajo de 100, se procede a hacer un ajuste en la formulación.

Otra de las consideraciones que hay que tener es que este ensayo preliminar se realiza antes de las pruebas *in vitro*, esto con el fin de asegurar que el producto apruebe en su mayoría los ensayos.

Ejemplo de un cálculo de MoS (Rogiers V., 2019).

Cálculo del margen de seguridad (MoS) de una sustancia A:

Exposición diaria a la loción de cuerpo: 123.20 mg/kg peso corporal/día
Concentración ingrediente en producto final: 2.0%
Absorción dermal: 1.5%
NOAEL: 20mg/kg peso corporal/día

$$SED = \left(\frac{1.5\%}{100\%}\right) \left(\frac{2\%}{100\%}\right) \left(123.20 \frac{mg \text{ peso corporal}}{kg \text{ día}}\right) = 0.037 \frac{mg \text{ peso corporal}}{kg \text{ día}}$$

$$MoS = \frac{20 \frac{mg \text{ peso corporal}}{kg \text{ día}}}{0.037 \frac{mg \text{ peso corporal}}{kg \text{ día}}} = 541$$

$541 > 100 \therefore \text{es seguro}$

1.4.1.3 México

En México, la primera instancia legal relacionada con los productos cosméticos se basa en el Artículo 4° de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, este artículo indica que toda persona tiene derecho a la protección de la salud. México posee un capítulo IX de la Ley General de Salud (LGS), así como el Título vigésimo segundo, Capítulo I del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios para señalar los requisitos que debe cumplir un cosmético para poder ser colocado en el mercado mexicano.

La Ley General de Salud en el artículo 1° señala que “se entiende por salud como un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades”. En su artículo 3° señala qué actividades se consideran materia de salubridad general.

El control sanitario de:

- Los productos y servicios y de su importación y exportación (XXII).
- Proceso, uso, mantenimiento, importación, exportación y disposición final de equipos médicos, prótesis, órtesis, ayudas funcionales, agentes de diagnóstico, insumos de uso odontológico, materiales quirúrgicos de curación y productos higiénicos (XXIII) (Dispositivos médicos).
- Los establecimientos dedicados al proceso de los productos (XXIV).
- La publicidad de las actividades, productos y servicios contemplados en la Ley (XXV).
- La sanidad internacional.

La Ley General de Salud en el artículo 17-bis estableció un órgano desconcentrado denominado Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), el cual es el encargado de vigilar el cumplimiento de cada uno de los documentos de regulación, las buenas prácticas de fabricación de productos cosméticos, la vigilancia de los establecimientos y también el encargado de vigilar la materia publicitaria (DOF, 2021).

El artículo 269 de la LGS establece que la secretaría de salud dará a conocer mediante Acuerdo o listados de todas aquellas sustancias restringidas o prohibidas para la elaboración de productos cosméticos. En la elaboración de productos cosméticos se podrán utilizar de manera inmediata aquellas sustancias que hayan sido evaluadas y aprobadas por la secretaría de salud, independientemente de su posterior inclusión en el Acuerdo o listados para uso general.

Según el Artículo 270 de la LGS, se establece que los fabricantes, importadores y comercializadores de productos cosméticos deberán contar con los estudios de seguridad, eficacia y todos los demás que se establezcan en diversos ordenamientos y normas aplicables y si se requiere deberán ser entregados a la Secretaría de Salud (DOF, 2021).

De igual forma en el artículo 271 Bis de la LGS se dictamina que no podrán fabricarse, importarse ni comercializarse productos cosméticos en los siguientes supuestos:

- a) Cuando en su formulación final medien o hayan mediado pruebas en animales.
- b) Cuando contengan ingredientes o combinaciones de éstos que sean o hayan sido objeto de pruebas en animales.

Lo dispuesto en el párrafo anterior podrá exceptuarse cuando:

- I. Un ingrediente deba someterse a pruebas de seguridad, y no existan los métodos alternativos validados por la comunidad científica internacional o alguna disposición sanitaria relativa y aplicable. En ningún caso se podrán realizar pruebas adicionales posteriores.
- II. Los datos de seguridad generados a través de pruebas en animales para un ingrediente se hayan realizado para otro fin diferente al cosmético.
- III. La seguridad del ingrediente sea ampliamente reconocida por el uso histórico del mismo, no serán necesarias pruebas adicionales, pudiendo ser usada en cambio la información generada previamente como soporte.
- IV. Sea necesario atender un requisito regulatorio establecido por otro país, para fines de exportación.

Según el artículo 1 del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (RCSPS) tiene por objeto la regulación, control y fomento sanitario del proceso, importación y exportación, así como de las actividades, servicios y establecimientos:

- a) Los de perfumería, belleza, aseo y repelentes de insectos.
- b) Aditivos.
- c) Los demás que, por su naturaleza y características, sean considerados como alimentos, bebidas, productos de perfumería, belleza o aseo o tabaco, así como las sustancias asociadas con su proceso.

Asimismo, son materia del RCSPS el envase, envasado e irradiación de los productos anteriormente mencionados.

En el artículo 190 del RCSPS señala que los tipos de pruebas que deberán realizarse para comprobar la inocuidad de los productos son:

- Índice de irritación primaria dérmica.
- Índice de sensibilización.
- Índice de irritación ocular.

Los productos que requieren alguna de estas 3 pruebas son mostradas en el Apéndice Tabla 12.

También el Artículo 192 del RCSPS indica que deben realizarse controles microbiológicos en la fabricación de los siguientes productos:

- I. Para la piel: cremas, lociones crema, talcos y polvos, maquillajes, lápices labiales, bronceadores, autobronceadores, protectores o filtros y bloqueadores solares.
- II. Para el área de los ojos: sombras, delineadores, rímel o máscara para pestañas y desmaquillantes.
- III. Para niños: talcos, polvos, aceites, cremas y lociones crema.

La NOM-089-SSA1-1994 es la norma encargada de establecer los métodos para la determinación de microorganismos, así como establecer los parámetros microbiológicos de los productos cosméticos, pero cabe destacar que cada fabricante puede efectuar métodos diferentes a los incluidos en la norma, con el fin de garantizar la calidad del producto; pero para efectos de vigilancia sanitaria se deben ajustar a los métodos establecidos en la norma (Reglamento CE No. 1223, 2009).

En la Figura 9 se muestra la jerarquía de las legislaciones aplicables a los productos cosméticos en México, en donde es de destacar que el dictamen federal publicado en el 2019 al reformar la Ley General de Salud entraría en el apartado de Leyes.



Figura 9. Jerarquía de las legislaciones aplicables a productos cosméticos en México. (Fuente: Luz Antonia Borja Calderón).

La Figura 10 muestra la regulación aplicable a productos cosméticos en México, en donde se observa cuales son las normas y los acuerdos que son obligatorios, además de señalar aquellos acuerdos que están derogados en la actualidad. En la sección de seguridad menciona el proyecto que sustituiría las pruebas de irritabilidad en piel e irritabilidad ocular.

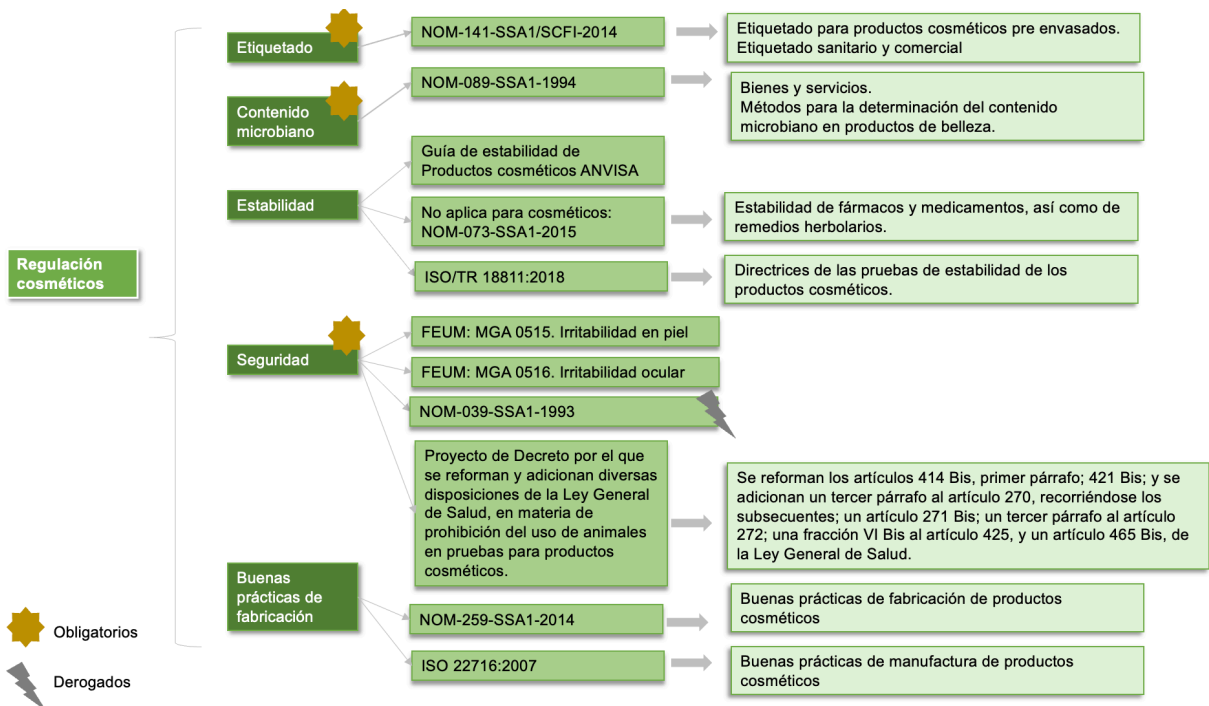


Figura 10. Regulación aplicable a productos cosméticos en México. (Fuente: Luz Antonia Borja Calderón).

El 19 de marzo de 2021 se aprueba el dictamen federal en el que se establece la prohibición del uso de animales en pruebas para productos cosméticos en la cámara de senadores, mientras que el 29 de abril de 2021 se aprueba el dictamen para la cámara de senadores. El dictamen reforma la Ley General de Salud, el artículo 425, en donde se adiciona que se clausurará temporal o definitiva, parcial o total los establecimientos que practiquen pruebas en animales con el propósito de manufacturar productos cosméticos, así como cuando en un establecimiento se fabriquen o comercialicen los productos cosméticos mencionados anteriormente en el artículo 271 Bis de la LGS. También se añade un tercer párrafo al artículo 270, en donde se menciona que en ningún caso los estudios mencionados en el artículo 270 podrán incluir pruebas en animales de productos cosméticos finalizados ni de sus ingredientes o la mezcla de ellos; de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. Sobre su objeto temático,

propone prohibir el uso de animales en actividades de investigación dirigidas al desarrollo de productos cosméticos, así como las pruebas con estos productos, con ingredientes o la mezcla de estos. Los responsables de la publicidad de productos cosméticos deberán presentar aviso a la Secretaría de Salud para publicitar sus productos.

Como se menciona anteriormente el dictamen publicado el 19 de marzo de 2020 prohíbe importar y comercializar productos cosméticos que hayan sido probados en animales. Sin embargo, el artículo 190 del RCSPS estipula que se deben de realizar pruebas de índice de irritación primaria dérmica, índice de sensibilización e índice de irritación ocular para los cosméticos que se encuentran en la tabla 12. En México la Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA1-1993. Productos de Perfumería y Belleza. Determinación de los índices de irritación ocular, primaria dérmica y sensibilización, establecía que para la evaluación de las pruebas antes citadas, existen métodos *in vitro* o en voluntarios humanos que podrían utilizarse, sin embargo, el 30 de julio 2003 se publicó la cancelación de la misma en el Diario Oficial de la Federación, y en su derogación se indicó que las pruebas debían ser sustituidas por la aplicación oficial de los métodos generales de análisis, MGA 0515, Irritabilidad en piel y MGA 0516, irritabilidad ocular, incluidos en la séptima edición, año 2000, de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). La FEUM hace uso de animales, por lo que, muchas empresas farmacéuticas han optado por seguir basándose en la norma a pesar de que los métodos ya no son reconocidos por la autoridad sanitaria en México. Es por esto por lo que, en su mayoría las evaluaciones son realizadas en el extranjero, las cuales se basan en métodos que han sido validados por diferentes comités científicos: ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods), ECVAM (European

Centre for the Validation of Alternative Methods) y la OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). Gracias a estas organizaciones ahora se cuenta con una vasta lista de métodos alternativos desarrollados *in vitro* e internacionalmente validados, los cuales se muestran más adelante.

México actualmente cuenta con una propuesta de norma que se viene trabajando desde la CANIPEC y se busca incluir metodologías sin el uso de animales, la ley llevaría el nombre de PROY-NOM-XXX-SSA1-20XX “Productos y servicios. Métodos de prueba de seguridad para productos cosméticos. Determinación de los índices de irritación ocular, irritación primaria dérmica y sensibilización dérmica.”

La norma tiene como objetivo actualizar el marco normativo para establecer métodos de prueba *in vitro* e *in vivo* que pueden tomarse como referencia para determinar los índices de irritación ocular, irritación primaria dérmica y sensibilización dérmica como soporte a la seguridad de los productos cosméticos. Considerando el papel de Europa y los Estados Unidos como referencia internacional en el sector cosmético, tanto por los avances tecnológicos aplicables en productos finales, como en tecnología aplicable a la evaluación de la seguridad de productos como en la experimentación con animales. Derivado de estos trabajos y a fin de enfocar los esfuerzos a una transición en la que el uso de animales para métodos de prueba sea reducido, en la Unión se prohíbe el uso de los mismos desde 2004 para los productos cosméticos obligando así que los avances e innovación se enfoquen en metodologías alternativas que permitan arrojar los datos extrapolables y aplicables a la evaluación de la seguridad, siendo así que la evolución al uso de pieles sintéticas, células e inclusive métodos estadísticos como la evaluación del

riesgo, abrieron diversas posibilidades adaptables a cada tipo de producto.

1.5. Evaluación de seguridad de productos cosméticos

A pesar de que existen diferencias entre las regulaciones de Estados Unidos, Europa y México, todos coinciden en la evaluación de los cosméticos con el fin de garantizar la seguridad de los productos cosméticos.

Los productos cosméticos rara vez se han asociado con serios riesgos a la salud, pero a pesar de ser considerados de bajo riesgo, es importante evaluar su seguridad. Aunque no es posible obtener un riesgo cero o una seguridad absoluta, siempre se han hecho esfuerzos razonables para minimizar sus riesgos con el propósito de proteger al consumidor. Dada la posibilidad de que estos productos se utilicen extensivamente por gran parte de la población, es evidente la necesidad de garantizar su uso seguro, controlando el contenido y la seguridad de los ingredientes y de los productos terminados (Kaluzhny *et al.*, 2015).

Los cosméticos se aplican sobre la piel, el cabello, el cuero cabelludo, las uñas, los labios, los dientes y las pestañas, incluida la cavidad oral y alrededor de los ojos. Las tendencias recientes del desarrollo de cosméticos se centran en productos que se aplican en partes del cuerpo en las que rara vez se usaban cosméticos y que tienen nuevos valores. Los desarrollos cosméticos en nuevos campos requieren una comprensión e investigación exhaustivas de la parte del cuerpo en la que se aplicarán los cosméticos, los materiales utilizados y las formulaciones (Iwata & Shimada, 2013).

1.5.1 La piel

La piel es una membrana externa, resistente que forma la parte superficial del organismo, y sirve de frontera activa entre éste y el medio ambiente. No sólo controla la pérdida de fluidos valiosos, sino que también permite el intercambio gaseoso, impide la entrada de sustancias externas, así como protege de daños mecánicos (rasurarse o depilarse), químicos (detergentes, jabones, cigarrillos, contaminantes), físicos (UV, frío/calor, viento, humedad) y biológicos (alérgenos, patógenos, microorganismos).

La piel está constituida por tres capas superpuestas. La más superficial se denomina epidermis, la capa media dermis, y la capa profunda hipodermis.

1.5.1.1 Epidermis

La epidermis es la capa más superficial de la piel, no está vascularizada, consiste en 15-20 capas y su función principal es la de barrera contra la pérdida de agua y la entrada de otras sustancias a la piel. Fisiológicamente, la epidermis es un tejido epitelial constituido por sucesivas capas de células superpuestas que se forman en la capa basal, las cuales son: estrato córneo, estrato granuloso, estrato espinoso y estrato basal.

El estrato córneo está formado por células que no tienen núcleo y su grosor depende del sitio anatómico.

El estrato granuloso está formado por células en figura de rombo y se ve fusiforme, su grosor depende de la capa córnea, aquí los queratinocitos terminan la síntesis de proteína (queratina) y de lípidos.

El estrato espinoso, lo constituyen células poliédricas que poseen puentes intercelulares,

estructuras que sirven como medio de unión entre ellas y a la vez con las capas adyacentes. Aquí es donde los queratinocitos maduran.

El estrato basal lo constituyen células cilíndricas, aquí es la zona de multiplicación en donde los queratinocitos generan células hijas.

1.5.1.2 Dermis

La dermis es un tejido de sostén elástico, extensible y compresible. Mucho más gruesa que la epidermis, en ella se encuentran los vasos sanguíneos, los nervios, las raíces de los pelos, las uñas y las glándulas sudoríparas y sebáceas.

Tiene un papel importante en la termorregulación y en la cicatrización. Las células principales son los fibroblastos, los cuales se encargan de sintetizar colágeno, elastina y glicosaminoglicanos (GAG's). El colágeno constituye el 70% de las proteínas y aporta la resistencia a las tensiones y tracciones, la elastina aporta las propiedades elásticas y los GAG's forman la matriz extracelular presente en la dermis.

1.5.1.3 Hipodermis

La hipodermis es el compartimiento más profundo y grueso de la piel, se encuentra adherido a la dermis a través de fibras de colágeno y elastina, está constituido por células especializadas en la acumulación y almacenamiento de grasa llamadas adipocitos, éstos se agrupan en lóbulos separados por tejido conjuntivo. La hipodermis está formada por una capa variable de tejido adiposo con una función de aislamiento, que permite que la piel se modifique y proteja contra la pérdida de calor y traumatismos superficiales, así como cumplir con el papel de reserva energética.

Algunos productos cosméticos pueden causar lesiones en los ojos o en la piel, tales como:

Irritación: Respuesta inflamatoria del organismo al estar en contacto con una sustancia no corrosiva que por contacto inmediato, prolongado o repetido causa una respuesta inmune, cabe destacar que este daño es reversible (OECD, 2002).

Sensibilización: Es una respuesta inmune a los haptenos de alguna sustancia que reaccionan con las proteínas de la piel y las vuelven inmunogénicas (Settivari *et al.*, 2017).

Fototoxicidad: Es una respuesta tóxica que se produce después de la exposición inicial de la piel a ciertos productos químicos y la exposición posterior a la luz, o que es inducida por la irradiación de la piel después de la aplicación de una sustancia química (EC, 2022).

1.6. Métodos alternativos validados

En la actualidad existen alrededor de 52 métodos aceptados, la mayoría se realizan *in vitro*, pero también se pueden completar *in vivo* (centrándose en el refinamiento y la reducción del uso de animales), *ex vivo* (realizado en escisiones de tejido de donantes animales o humanos), *in chemico* (ensayos químicos y bioquímicos) e *in silico* (modelado computacional y detección) (Silva & Tamburic, 2022). A continuación, se mostrarán algunos de los métodos que podrían sustituir la irritabilidad dérmica, la irritación ocular, sensibilización dérmica, fototoxicidad y fotoalergia.

- 1) Para la evaluación del potencial como irritante/corrosivo dérmico:
 - a. Método OECD TG 430 – Corrosión dérmica *in vitro*: Test de Resistencia Eléctrica Transcutánea (TER).
 - b. Método OECD TG 439 - Corrosión dérmica *in vitro*: Test de Epidermis Humana Reconstituida (RhE).
- 2) Para la evaluación del potencial como irritante ocular:
 - a. Método OECD TG 437 – Test de Permeabilidad y Opacidad de Córnea Bovina (BCOP).
 - b. Método OECD TG 460 – Test de Permeación a la Fluoresceína (FL).
 - c. Método OECD TG 492 – Test de Córnea humana reconstituida (RhCE).
- 3) Para la evaluación de sensibilización dérmica:
 - a. Método OECD TG 442C – Ensayo de reactividad peptídica directa (DPRA).
 - b. Método OECD TG 442D – Ensayo de activación de queratinocitos.
 - c. Método OECD TG 442E – Ensayo de activación de células dendríticas.
 - d. Método OECD TG 497 – Guía sobre enfoques definidos para la sensibilización dérmica.
 - e. Ensayo *in vivo* de parche repetido en humano (HRIPT).
- 4) Fototoxicidad:
 - a) Método OECD TG 432 – Ensayo de fototoxicidad *in vitro* 3T3 NRU.
 - d. Método OECD TG 498 – Ensayo de fototoxicidad *in vitro*: Test de Epidermis Humana Reconstituida (RhE).
- 5) Fotoalergia:
 - a) Ensayo *in vivo* de parche repetido en humano (HRIPT).

1.6.1 Irritación dérmica

En el caso del test de resistencia eléctrica transcutánea, se hace uso de piel de rata. Se sabe que los compuestos que son corrosivos se identifican por su habilidad de dañar la integridad del estrato córneo y su función de barrera, lo anterior mencionado se mide a través de la reducción del nivel TER, en donde en el caso de la piel de rata se selecciona un valor de corte de 5 k Ω en donde si los valores son ($>$ o \geq) 5 k Ω no se consideran corrosivos, mientras que por el contrario los valores son ($<$) 5 k Ω se consideran corrosivos (Oliver G.J.A., *et. al.*, 1986; Fentem, J.H. *et. al.*, 1998; TER SOP, 2008).

Para el test de epidermis humana reconstituida se usa un modelo RhE tridimensional compuesto de queratinocitos epidermales, los cuales han sido cultivados para formar una multicapa (un modelo altamente diferenciado de la epidermis humana). Este método se muestra en la Figura 11 y se basa en la premisa de que los compuestos corrosivos son capaces de penetrar el estrato córneo mediante la difusión o la corrosión, además de que son citotóxicos para las células de las capas inferiores. La viabilidad celular se mide mediante una conversión enzimática del colorante MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol) en una sal azul de formazán, la cual es cuantitativamente medida después de la extracción del tejido, por lo que, si se tiñen (\geq) 50% de las células después de una exposición de 240 minutos quiere decir que no es corrosivo, mientras que por el contrario si se tiñe más del 35% en 60 minutos, o se tiñe menos del 50% en un exposición de 3 minutos es corrosivo, los cuales como se observan en la Tabla 1, son clasificados según el Sistema Global Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (GHS), en donde la categoría 1 corresponde a un

producto corrosivo, la categoría 2 a un producto irritante y la categoría 3 a un producto medianamente irritante, por el contrario si no es ninguno de los 3, se considera no irritante y por lo tanto, no tiene una categoría. (Fentem, J.H. *et. al.*, 1998; EpiSkinTM, 2011; Alépée N. *et. al.*, 2014; Tabla 1; Figura 11).

Tabla 1. Interpretación y clasificación de los resultados del test de RhE

% Viabilidad celular	Clasificación <i>in vitro</i>	Clasificación GHS
> 50	No irritante (NI)	Sin categoría
≤ 50%	Irritante (I)	Categoría 1 o 2

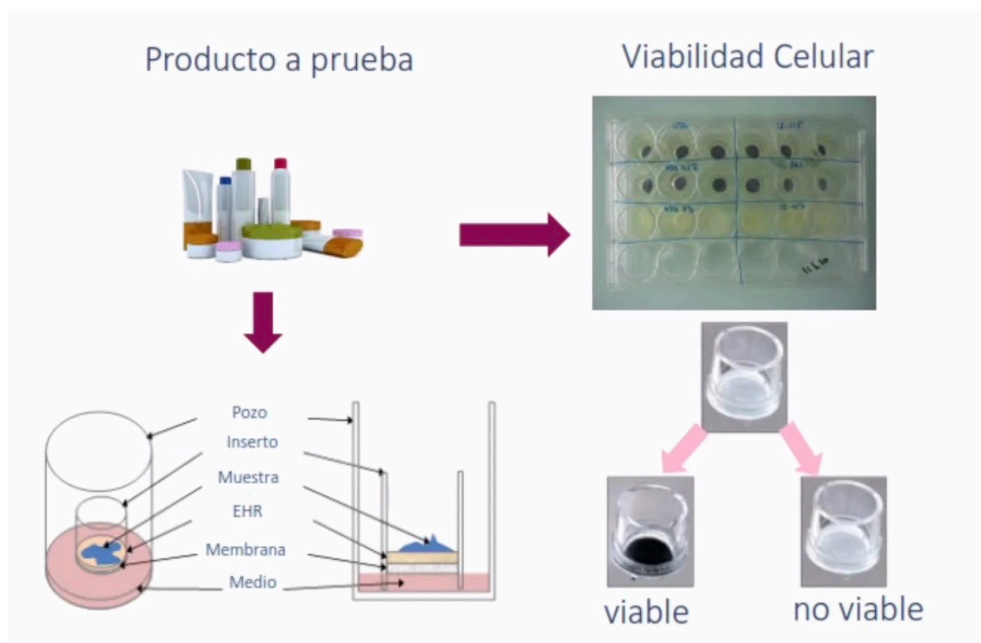


Figura 11. Esquema del test de epidermis humana reconstituida. (Fuente: Andrea Cano Herrera).

1.6.2 Irritación ocular

Para el caso de irritabilidad ocular existen de igual manera varios métodos, el test de permeabilidad y opacidad de córnea bovina se basa en mediciones cuantitativas (opacímetro y espectrofotómetro de luz visible) de los cambios en la opacidad córnea y la permeabilidad. Se usan córneas aisladas de bovino recién sacrificado, la opacidad se mide por la cantidad de transmisión de luz a través de la córnea, mientras que la permeabilidad mide la cantidad de colorante de fluoresceína sódica que atraviesa todo el espesor de la córnea, la cual es detectada en una cámara, si se disminuye la opacidad y aumenta la permeabilidad del colorante, quiere decir que en efecto si es irritante y puede producir un daño en la córnea, la clasificación es la misma mencionada anteriormente a diferencia de que la categoría 2A es cuando los efectos oculares no son completamente reversibles dentro de los 7 días de observación; Categoría 2B cuando los efectos oculares son completamente reversibles dentro de los 7 días de observación. (ICCVAM, 2006; ICCVAM, 2010; OECD, 2013; Verstraelen; Adriaens, E. *et. al.*, 2020).

Tabla 2. Interpretación y clasificación del test de Permeabilidad y Opacidad de Córnea Bovina (BCOP)

Calificación “Draize <i>in vivo</i> ”	Escala de irritación “Draize <i>in vivo</i> ”	Calificación “ <i>in vitro</i> ”	Escala de irritación “ <i>in vitro</i> ”	Escala de irritación “ <i>in vitro</i> ” UN GHS
0 – 0.9	Mínima	0 – 3	No irritante	Sin categoría
1 – 25	Mínima /Ligera	3.1 – 25	Irritante suave*	Entre categorías 2, 2A y 2B
26 – 56	Moderada	25.1 – 55	Irritante moderado	
57 – 84	Marcada	55.1 – 80	Irritante severo	Categoría 1
85-110	Extrema	>80.1	Irritante muy severo	

* Únicamente aquellos con contenido surfactante pueden estar en la clasificación de irritante suave.

En el test de permeación a la fluoresceína se evalúa la corrosividad ocular o la irritación severa de una sustancia de prueba medida por su capacidad para inducir daño a una monocapa epitelial confluyente impermeable. Se ha demostrado que el aumento de la permeabilidad del epitelio corneal *in vivo* se correlaciona con el nivel de inflamación y daño superficial observado a medida que se desarrolla la irritación ocular. En el método de prueba FL, los efectos tóxicos después de un breve tiempo de exposición a la sustancia de prueba se miden mediante un aumento en la permeabilidad de la fluoresceína sódica a través de la monocapa epitelial de células Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) cultivadas en insertos permeables. La cantidad de fuga de fluoresceína que se produce es proporcional al daño inducido por productos químicos en las uniones estrechas, las uniones desmosómicas y las membranas celulares, y se puede utilizar para estimar el potencial de toxicidad ocular de una sustancia de prueba. Si la FL₂₀ (mg/mL) tiene un valor ≤ 100 entra dentro de la categoría 1 (daños serios al ojo o que tienen efectos irreversibles). La Figura 12 esquematiza el ensayo, en donde se tiene una membrana microporosa que proporciona un sistema de cultivo de dos cámaras si al aplicar el producto existe un daño a la membrana plasmática y/o a las uniones epiteliales se detectaría mediante la fuga de fluoresceína a través de la cámara basal. (EC-ECVAM, 2009; EC-ECVAM, 1999; EC-ECVAM, 2008; Tabla 3; Figura 12).

Tabla 3. Interpretación y clasificación del test de permeabilidad FL.

FL ₂₀ (mg/mL)	Clasificación GHS
$\leq 100\%$	Categoría 1

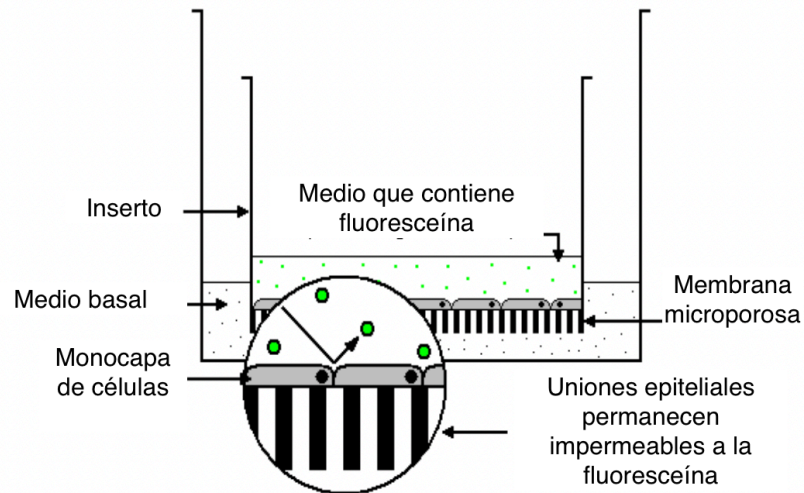


Figura 12. Esquema del test de permeación a la fluoresceína. (Imagen obtenida :Wilkinson)

Finalmente, el test de córnea humana reconstituida es un ensayo *in vitro* citotóxico, en la Figura 13 se esquematiza la monocapa confluyente de células de córnea de conejo de Statens, cultivadas en una microplaca de 96 pozos, las células son expuestas al compuesto durante 5 minutos a una concentración del 5% y 0.05%. La citotoxicidad es cuantitativamente medida. La viabilidad celular disminuida se usa para predecir posibles efectos adversos que conducen a daño ocular. Si la viabilidad celular en concentración de 5% y 0.05% es menor o igual al 70% son clasificados como categoría 1 (Takahashi, Y. *et. al.*, 2008; Mikkelson T.J. *et. al.*, 1973; OECD, 2018; Tabla 4; Figura 13).

Tabla 4. Interpretación y clasificación del test de RhCE.

% Viabilidad celular	Clasificación <i>in vitro</i>	Clasificación GHS
> 60%	No irritante (NI)	Sin categoría
≤ 60%	Irritante (I)	No se puede realizar la predicción (Entre categoría 1 o categoría 2)

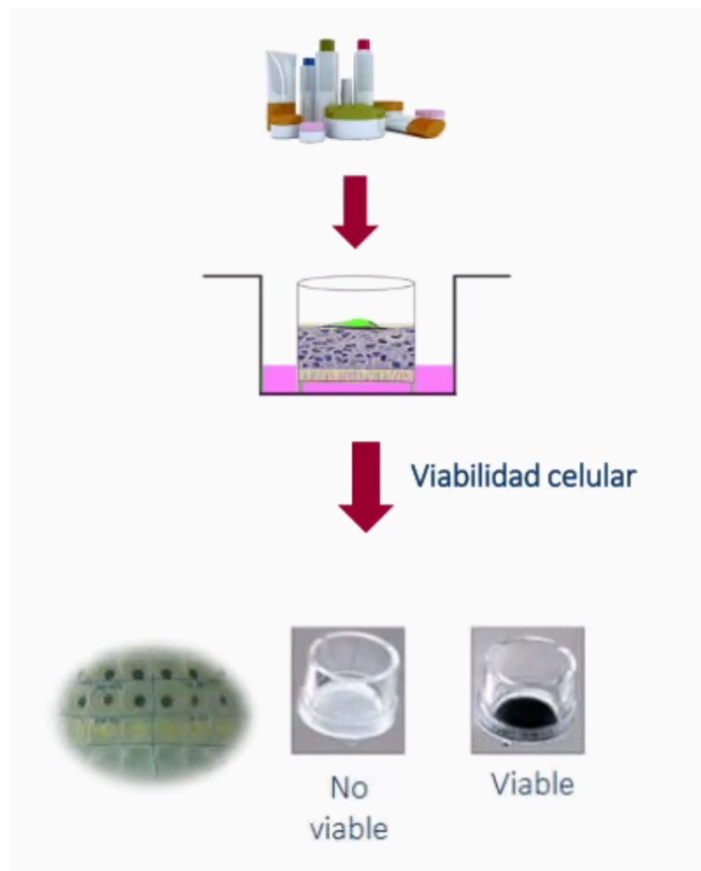


Figura 13. Esquema del test de córnea reconstituida. (Imagen obtenida: Andrea Cano Herrera).

1.6.3 Sensibilización dérmica

Una sensibilizante de la piel se refiere a una sustancia que provoca una respuesta alérgica después del contacto con la piel (UN, 2021). Los mecanismos químicos y biológicos asociados a la sensibilización se resumen en una cascada de señalización que comienza con un evento iniciador molecular a través de eventos intermediarios al efecto adverso comúnmente dermatitis alérgica al contacto (OCDE, 2012). Esta vía se enfoca en compuestos que reaccionan con los residuos de aminoácidos (cisteína o lisina). El evento iniciador (key event 1) es la unión covalente de sustancias electrofílicas a los centros nucleofílicos en las proteínas de la piel. El segundo key event toma lugar en los queratinocitos e incluye una respuesta inflamatoria, así como cambios en la expresión de genes asociados con vías de señalización celular específicas, como las

vías dependientes del elemento de respuesta antioxidante/electrofílico. El tercer key event es la activación de células dendríticas, normalmente se evalúa mediante la expresión de marcadores de superficie celular específicos, quimiocinas y citocinas. Finalmente, el Key event 4 es la proliferación de células T (OECD, 2022).

Se estudia el mecanismo por el que se desencadena una sensibilización dérmica key event 1 (KE1), key event 2 (KE2), key event 3 (KE3) son los eventos que ocurren cuando una sustancia va penetrando en las diferentes capas de la piel: epidermis, dermis, hipodermis y finalmente torrente sanguíneo. En la Figura 13 se resume las etapas por las que el organismo responde a un producto que genera una respuesta inmunológica, más adelante se describen detalladamente cada uno de los eventos descritos en la figura, la tabla es una vista general de los eventos que caracterizan las respuestas inmunológicas, así como los métodos que se usan para la medición de estos.



Figura 14. Métodos por los que se prueba la sensibilización dérmica. (Imagen obtenida: Andrea Cano Herrera).

En el ensayo de reactividad peptídica directa se mide la concentración restante de cisteína o lisina que contiene el péptido después de 24 horas de incubación a 25 °C. Lo que se mide es la tasa de agotamiento de estos péptidos y se evalúa a través de una cromatografía (HPLC-UV) (Gerberick *et. al.*, 2004 & 2007; EC EURL.ECVAM, 2013; Fujita *et. al.*, 2014).

Para el ensayo de activación de queratinocitos se usa una línea celular derivada de estas células dérmicas, las cuales cuentan con un gen que se regula por la respuesta a ingredientes que pueden causar sensibilización, por lo que al activarse se sintetiza la luciferasa, la cual es detectada mediante una detección de luminiscencia (Waaserman & Fahl, 1997; Gildea *et. al.*, 2006; Ryan *et. al.*, 2004; Emter *et. al.*, 2013).

El ensayo de activación de células dendríticas se realiza mediante 3 evaluaciones, la primera es el método h-CLAT, el cual es una línea celular de leucemia monocítica humana. El método cuantifica los cambios en la expresión de unos marcadores que se encuentran en la superficie celular de la membrana (CD86 y CD54) después de 24 horas de exposición al producto. Los cambios en la expresión se miden mediante citometría de flujo después de la tinción con anticuerpos fluorescentes. También se mide citotoxicidad, con el fin de evaluar si la regulación de estos marcadores ocurre en concentraciones subcitotóxicas.

El siguiente es el método U-SENS el cual se basa de igual manera en la detección en los cambios de la expresión de CD86, solo que en este método se usan células U937, las cuales son una línea celular de linfoma histiocítico humano (Piroird *et. al.*, 2015).

El ensayo de Interleucina 8 (IL-8) hace uso de líneas celulares de leucemia monocítica humana, estas células sintetizan luciferasa por la respuesta de IL-8 y la gliceraldehído-

3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), la cual de igual forma es detectada mediante luminiscencia, se evalúa a una $\lambda=580$ nm si la luciferasa es de color naranja o $\lambda=630$ nm si es de color rojo. Las células se incuban 16 horas con el ingrediente que se quiere probar (Takahashi *et. al.*, 2011; Nakajima *et. al.*, 2005; OECD, 2017).

La OCDE 497 dice que se tiene que evaluar la 442C, 442D, 442E y si se tiene un efecto en 2 de los 3 ensayos anteriormente mencionados, el producto se define como sensibilizante (OECD, 2018; Bauch *et. al.*, 2012; Urbisch *et. al.*, 2015).

En el HRIPT es un ensayo clínico que se realiza en voluntarios humanos, es comunmente usado en la industria para determinar el potencial de irritación, sensibilización y contacto alérgico de un producto. EL HRIPT permite respaldar los claims de “hipoalergénico”, “probado por dermatólogos”, “no irritante” o “adecuado para pieles sensibles” (Bormann & Maibach, 2021).

En la Figura 15 puede observarse como primero se empieza con una etapa de reclutamiento en donde se evalúa si las personas son aptas o no de participar en el ensayo, después sigue la semana de inducción, esta etapa dura 3 semanas y es donde los panelistas son expuestos a los químicos, 9, 24 o 48 horas durante un periodo de 3 semanas, siguiendo con un periodo de 1 semana de descanso, la prueba se aplica en un sitio expuesto y otro no expuesto. Pasada la semana de descanso se aplica nuevamente el parche durante 24 o 48 horas y la reacción resultante es clasificada según los signos clínicos que presente el panelista. En la Figura 15 se observa la escala de signos clínicos, en donde como puede observarse en la Tabla 5, la clasificación 0 es que hay ausencia de una respuesta inmunológica, mientras que la clasificación 1 muestra la presencia de un eritema leve, el 2 es un eritema que es visible notablemente, el 3 se

observa la presencia de eritema, edema y pápulas, mientras que el 4 además de los signos presentes en el 3 presenta la presencia de vesículas purulentas. (EC, 2000; Api *et. al.*, 2008; Figura 15; Figura 16; Tabla 5).

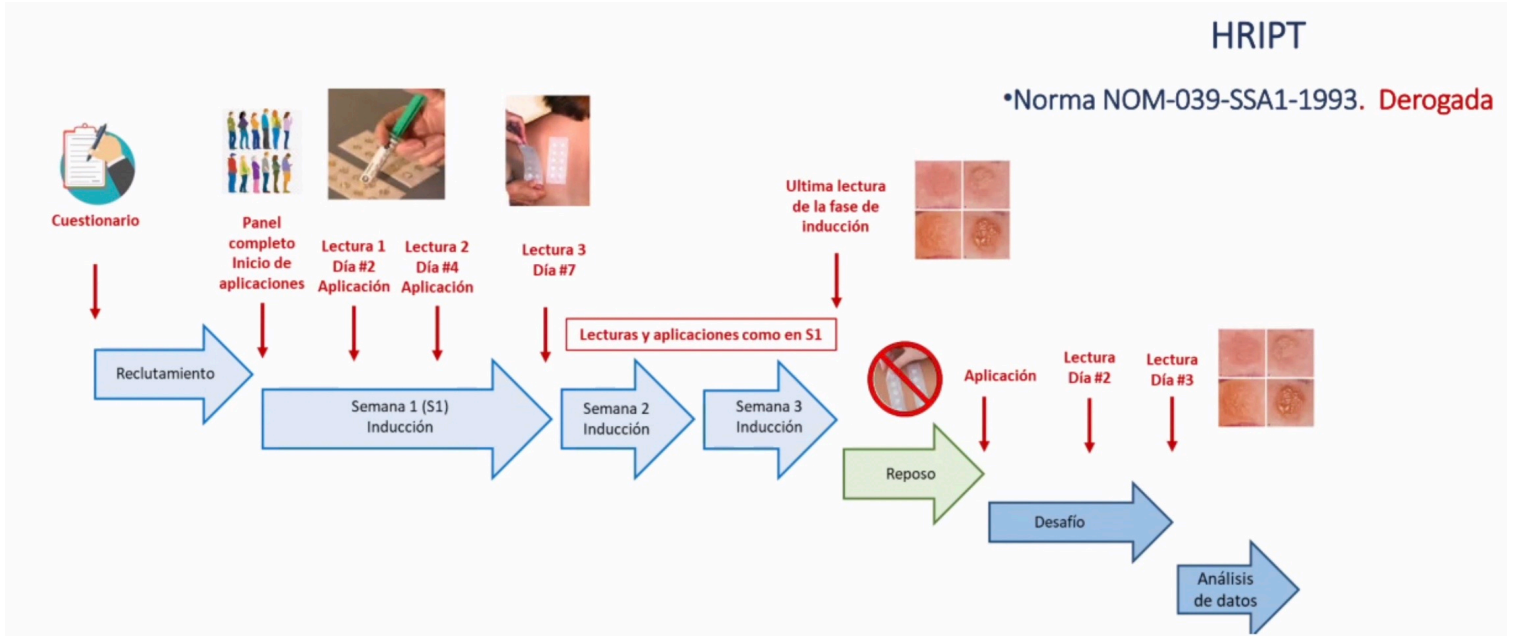


Figura 15. Procedimiento que se realiza para el ensayo de HRIPT de sensibilización dérmica. (Imagen obtenida: Andrea Cano Herrera).

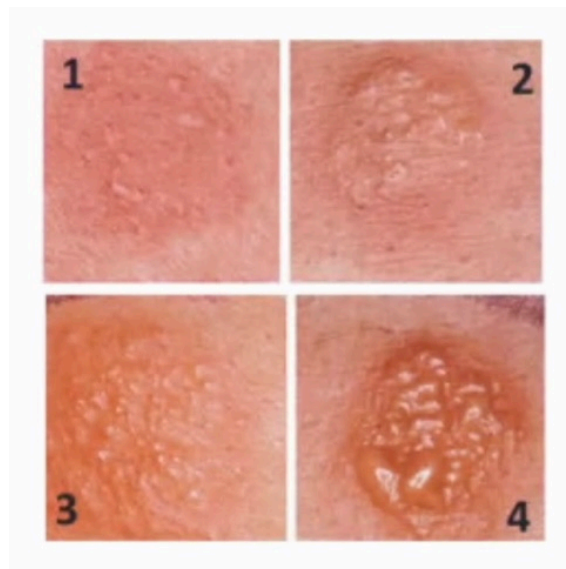


Figura 16. Escala de signos clínicos y evaluación dermatológica. (Imagen obtenida: Andrea Cano Herrera).

Tabla 5. Interpretación y clasificación del test de HRIPT

Reacción	Resultado
0 – Ausente	Negativo (-)
1- Eritema Leve	Dudoso (+/-)
2 – Eritema evidente	Positivo (+)
3 – Eritema + edema + pápulas	Positivo (++)
4 - Eritema + edema +pápulas + vesículas	Positivo (+++)

1.6.4. Fototoxicidad

Otro de los estudios que no se solicitan para toda la clasificación de productos son los estudios de fototoxicidad.

El ensayo de fototoxicidad *in vitro* usa fibroblastos de ratón, como puede observarse en la Figura 17, las células son crecidas en placas de 96 pozos y son expuestas al producto prueba durante 18-24 horas con irradiación controlada y en completa oscuridad, después son teñidos con el colorante vital rojo neutro, el cual tiñe de rojo a las células vivas, debido a que los lisosomas retienen el pigmento, por el contrario las células muertas no pueden teñirse. Las placas son leídas en un espectrofotómetro y un programa especial calcula si el producto es fototóxico, probable fototóxico o no fototóxico. En la Tabla 6 se muestra la interpretación de los resultados en donde se toma en consideración el fotoefecto medio (MPE) y el factor de fotoirritación (PIF), el MPE es una medida derivada de un análisis matemático del trazado completo de dos curvas de dosis-respuesta obtenidas en ausencia y presencia de UV de una irradiación no citotóxica con UVA/luz visible, el PIF es un factor que se obtiene comparando dos concentraciones citotóxicas

de la sustancia de ensayo en ausencia y presencia de UV de una irradiación no citotóxica con UVA/luz visible. (Borenfreund & Puerner, 1985; Brunk & Svensson, 1999; Johansson *et. al.*, 2010; DIRECTIVA 2000/33/CE DE LA COMISIÓN; Figura 17; Tabla 6).

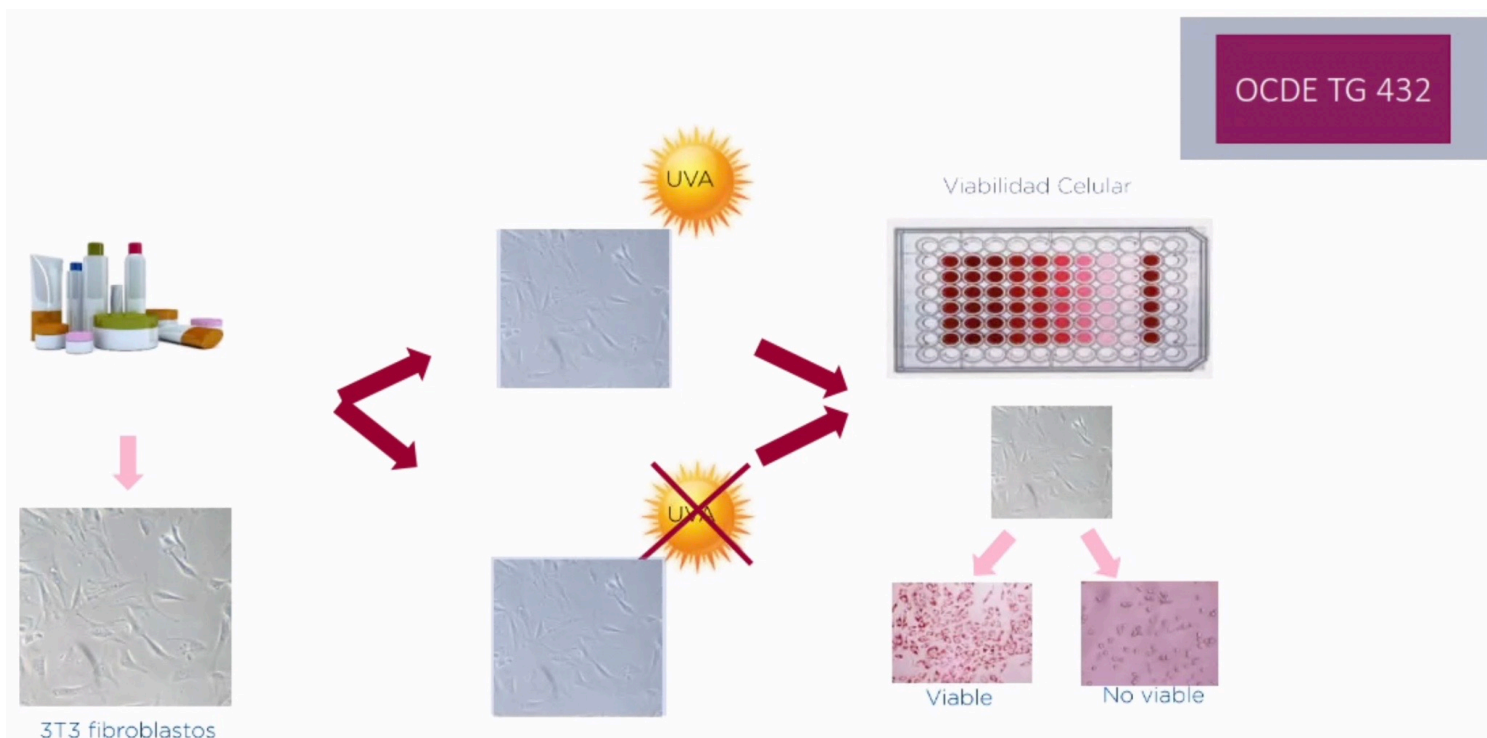


Figura 17. Esquema del test de fototoxicidad en fibroblastos de ratón. (Imagen obtenida: Andrea Cano Herrera).

Tabla 6. Interpretación de los resultados de la prueba de fototoxicidad en fibroblastos de ratón.

Clasificación	MPE	PIF
No fototóxico	< 0.1	< 2
Probable fototóxico	0.1 – 0.15	2 - 5
Fototóxico	> 0.15	> 5

El test de fototoxicidad *in vitro* en epidermis humana reconstituida se observa en la Figura 18, en donde se usa un modelo RhE tridimensional compuesto de queratinocitos epidermales, los cuales han sido cultivados para formar una multicapa (un modelo altamente diferenciado de la epidermis humana). El producto se aplica directamente sobre la epidermis, sin importar si es soluble o no y se expone a dosis controladas de exposición a rayos UVA controlada y el otro se mantiene en completa oscuridad, transcurrido el tiempo se hace la prueba de viabilidad celular y se determinan los porcentajes de esta (OECD, 2020 & 2019; Liebsch, 1997; Kandárová & Liebsch, 2017; Liebsch *et. al.*, 1999; Figura 18; Tabla 7).

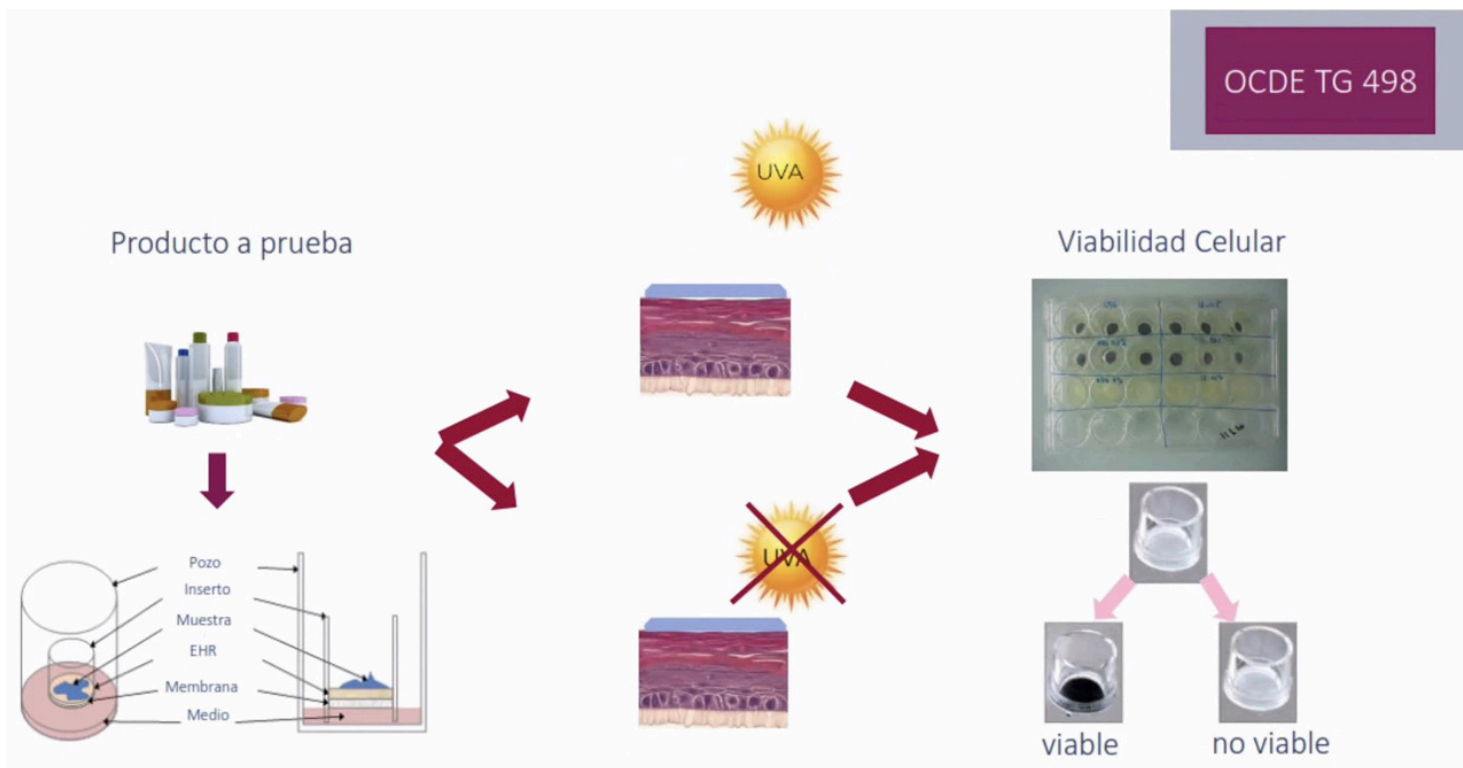


Figura 18. Esquema del test de fototoxicidad *in vitro* en RhE. (Imagen obtenida: Andrea Cano Herrera).

Tabla 7. Interpretación de los resultados del test de fototoxicidad *in vitro* en RhE.

% Viabilidad celular	Clasificación
Diferencia entre tejidos irradiados y no irradiados $\leq 30\%$	No fototóxico
Diferencia entre tejidos irradiados y no irradiados $> 30\%$	Fototóxico

1.6.5 Fotoalergia

En el HRIPT, se hacen diferentes aplicaciones del producto a prueba para evaluar signos clínicos y ver si el producto en contacto con luz solar, presenta una respuesta alérgica al producto.

Como se observa en la Figura 19, lo primero por lo que se empieza es con la etapa de reclutamiento en donde se evalúa si las personas son aptas o no de participar en el ensayo, después sigue la semana de inducción, esta etapa dura 3 semanas y es donde los panelistas son expuestos a los químicos, 9, 24 o 48 horas durante un periodo de 3 semanas, siguiendo con un periodo de 1 semana de descanso, la prueba se aplica en un sitio expuesto a luz solar. Pasada la semana de descanso se aplica nuevamente el parche durante 24 o 48 horas y la reacción resultante es clasificada según los signos clínicos que presente el panelista (Robinson *et. al.*, 1989; Kimber *et al.*, 2001; Gerberick & Robinson, 2000; Figura 15; Figura 19; Tabla 5).

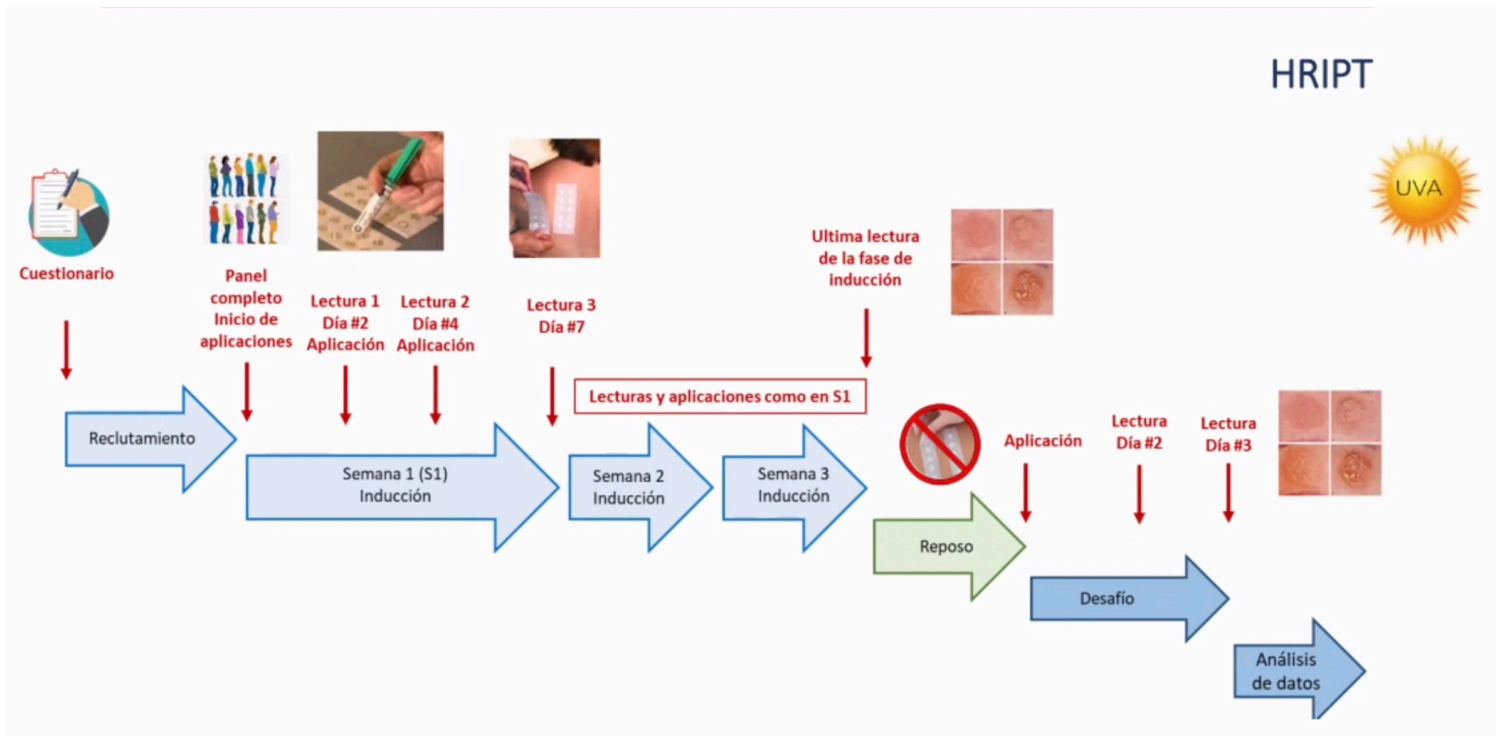


Figura 19. Procedimiento que se realiza para el ensayo de HRIPT para el ensayo de fotoalergia. (Imagen obtenida: Andrea Cano Herrera).

1.7. Problema por desarrollar

La experimentación con animales ha sido uno de los temas más debatidos en la actualidad. Mundialmente los únicos países con regulaciones que prohíben la experimentación de cosméticos en animales y la comercialización de sus productos, son todos los países pertenecientes a la Unión Europea (UE), Guatemala, Islandia, India, Israel, Nueva Zelanda, Noruega, Serbia, Suiza, Turquía y Corea del Sur siendo la UE el primer precursor (Yablonski, 2002).

Esto ha sido un paso que encamina a los demás países a buscar alternativas para legislar y fortalecer el marco normativo de protección animal. En México, la industria

cosmética ocupa el tercer lugar en producción, después de EE.UU. y Brasil. Se estima que 115 millones de animales en el mundo son utilizados en laboratorios para la experimentación, en la región, Brasil, México y Argentina encabezan la lista (Duch, 2018). En México en el año 2020 se realizó un dictamen del uso de animales en el ámbito cosmético, éste realiza modificaciones al Artículo 270 de la Ley General de Salud (LGS) en donde se estipula que no se podrá fabricar, importar y comercializar productos cosméticos que hayan sido probados en animales, así como sus ingredientes.

Al ser un nuevo dictamen no se cuenta con la información necesaria para la cobertura de áreas importantes como lo son la evaluación de seguridad y eficacia de los ingredientes que no han sido probados en animales. Esto representa un riesgo para el consumidor. Para tales efectos, este trabajo busca realizar un análisis de las pruebas alternativas de seguridad y eficacia que reemplacen los ensayos con animales, en busca de tener un punto de partida basado en los requisitos del nuevo dictamen que reforma la Ley General de Salud y la Ley Federal de Sanidad Animal, en materia de bienestar animal avalado por la cámara de diputados.

2. DISCUSIÓN

El cálculo del MoS/NOAEL como se ha descrito anteriormente es un ensayo preliminar que se usa en la actualidad por muchos países antes de realizar las pruebas *in vitro* y en panelistas, este método tiene algunas ventajas, entre ellas existe la ventaja de que podría ser un ensayo para predecir si el ingrediente puede ser de riesgo o no, además de que muchos valores de NOAEL de ingredientes ya se encuentran enlistados, las desventajas de este método es que muchas veces los valores de NOAEL son resultado de ensayos *in vivo* realizados durante un período de 1 mes o 3 meses en una variedad de vertebrados, por lo que la falta de métodos alternativos nuevos validados para determinar estos valores plantea un gran problema para la introducción de nuevos ingredientes cosméticos en el mercado. Actualmente se han desarrollado y explorado métodos *in vitro* para sobrellevar esta desventaja, todo esto gracias a un proyecto conocido como “Evaluación de seguridad que reemplaza en última instancia a las pruebas con animales (SEURAT), este proyecto busca pasar de las pruebas *in vivo* tradicionales a la predicción toxicológica *in silico* (Gocht *et al.*, 2015).

Con base en lo que se ha revisado en este trabajo se han observado los distintos marcos regulatorios que rigen al Continente Europeo, a Estados Unidos y a México. Empezando desde la definición de cosmético, en donde todas los definen como una sustancia que está destinada a ser puesta en contacto con las superficies del cuerpo con el fin de limpiar o aumentar el atractivo.

En el apartado de seguridad Estados Unidos y Europa tienen una mayor regulación en cuanto a cosméticos en comparación con México, en el caso de Europa este tiene un reglamento en donde se prohíbe el uso de animales para las pruebas de seguridad de

los cosméticos, en México como se menciona anteriormente no cuenta con una normativa que describa cuáles son los métodos que deben de usarse para las pruebas de seguridad, antes se tenía el documento NOM-039-SSA1-1993. Productos de Perfumería y Belleza. Determinación de los índices de irritación ocular, primaria dérmica y sensibilización, en donde se especificaban las pruebas que debían de tener los fabricantes para demostrar la inocuidad del producto terminado, sin embargo en el año 2003 se deroga esta norma y se pide que las pruebas se sustituyan con los métodos presentes en la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, sin embargo existe un vacío legal porque hay forma de sustituir la prueba de irritabilidad en piel e irritabilidad ocular, pero no la forma de sustituir la de sensibilización dérmica, y así se estuvo por 15 años, hasta la publicación del dictamen en el 2019, en donde se menciona que se prohíben las pruebas en animales, por lo que las formas de demostrar la inocuidad de los productos ya no son válidas, por lo que actualmente no existe un documento legal en la que los fabricantes puedan demostrar la seguridad de sus productos. Para el caso de estados unidos, este no pide pruebas en animales para demostrar que los cosméticos son seguros, sin embargo, la FDA siempre ha aconsejado a los fabricantes de cosméticos que empleen cualquier prueba que sea apropiada y efectiva para corroborar la seguridad de sus productos. Al final sigue siendo responsabilidad del fabricante comprobar la seguridad tanto de los ingredientes como de los productos cosméticos terminados antes de su comercialización.

Para la prueba de seguridad de la formula, Estados Unidos, Europa y México proveen de documentos que son reportes finales en donde se evalúa lo siguiente:

Tabla 8. Diferencias entre los reportes finales de cosméticos en Estados Unidos, Unión Europea y México (CIR, SCCS, RCSPS).

Pruebas reporte final	Estados Unidos	Unión Europea	México
Evaluaciones toxocinéticas	✓		
Toxicidad aguda	✓	✓	
Toxicidad dérmica	✓		
Toxicidad crónica	✓	✓	
Irritación dérmica	✓	✓	✓
Sensibilización dérmica	✓	✓	✓
Fotosensibilización	✓		
Irritación ocular	✓		✓
Irritación en membrana mucosa	✓	✓	
Genotoxicidad	✓		
Carcinogenicidad	✓		
Absorción/penetración dérmica		✓	
Fototoxicidad		✓	

Como se ha visto en la tabla 11, el marco regulatorio de México respecto a otros países está considerablemente rezagado, lo que pone de manifiesto la necesidad de centrar esfuerzos con el objetivo de garantizar la seguridad, calidad y eficacia de los productos cosméticos que se comercializan dentro del país

Muchos de los métodos mencionados han sido realizados, estandarizados y validados en Europa, lo cual es una ventaja para México, puesto que muchas pruebas que se realizan en la actualidad son llevadas a cabo mayormente en Europa o se basan en estos métodos. Actualmente la CANIPEC viene coadyuvando continuamente con las autoridades mexicanas en la revisión del marco regulatorio, ofreciendo información actualizada respecto de nuevas tecnologías y buenas prácticas en la industria a nivel internacional en varios temas, incluyendo el uso de métodos alternativos. Esto permite promover la competitividad a lo largo de la cadena de valor, en un marco de

responsabilidad social y ética.

Los métodos de prueba de la OCDE han sido requeridos por las autoridades regulatorias previamente a la aceptación de nuevas pruebas, cumpliendo con este requisito es como se ha ido dando la homologación en los países ya mencionados. Esta homologación debería ser considerada por las autoridades de todos los países para tener seguridad en la implementación de nuevos métodos alternativos. Esto significa que las directrices de la OCDE deberían ser consideradas como el patrón de oro debido a que sus métodos se encuentran perfectamente desarrollados y validados, además de que se ha visto que conforme se han aceptado regulatoriamente e implementado, han mostrado resultados favorables en la evaluación de ingredientes cosméticos y sus mezclas, promoviendo el concepto de que los cosméticos son seguros por diseño, en la tabla 11 se muestran las diferencias y similitudes de los métodos.

Tabla 9. Diferencias y similitudes de los métodos *in vitro* alternativos.

Métodos	Métodos	Similitudes	Diferencias
Irritación dérmica	Test de Resistencia Eléctrica Transcutánea (TER)	Ambos métodos miden la capacidad corrosiva de los compuestos, al penetrar al estrato córneo. El RhE mide viabilidad celular mediante la conversión enzimática del colorante MTT en una sal azul de formazán, esta metodología se usa de igual forma en el test de irritación ocular (RhCE) y para el de fototoxicidad (RhE).	En el caso de TER se usa piel de rata, mientras que para el RhE se usan queratinocitos epidermales cultivados <i>in vitro</i> . En el TER se mide la resistencia eléctrica transcutánea, mientras que en el RhE se mide la viabilidad celular.
	Test de Epidermis Humana Reconstituida (RhE)		
Irritación ocular	Test de Permeabilidad y Opacidad de Córnea Bovina (BCOP)	El BCOP y el FL miden la cantidad de fluoresceína sódica que atraviesa la córnea.	BCOP usa córnea aislada de bovino, mientras que el FL usa una monocapa epitelial de células MDCK. El RhCE usa una monocapa de células de córnea de conejo
	Test de Permeación a la Fluoresceína (FL)		
	Test de Córnea humana reconstituida (RhCE)		
Sensibilización dérmica	Ensayo de reactividad peptídica directa (DPRA)	El ensayo de activación de queratinocitos detecta luminiscencia de la luciferasa, de igual forma para el ensayo de activación de células dendríticas (IL-8). El ensayo de activación de células dendríticas (U-	El DPRA mide la concentración restante de cisteína o lisina. El ensayo de activación de queratinocitos usa una línea celular derivada de los queratinocitos, mientras que el h-CLAT usa una línea celular de leucemia
	Ensayo de activación de queratinocitos		
	Ensayo de activación de células dendríticas		
	Guía sobre enfoques definidos para la sensibilización dérmica.		

	Ensayo in vivo de parche repetido en humano (HRIPT)	SENS) de igual forma al h-CLAT mide cambios en la expresión de marcadores en membrana. h-CLAT e IL-8 usan líneas celulares de leucemia monocítica humana.	monocítica humana. U-SENS usa células U937
Fototoxicidad	Ensayo de fototoxicidad <i>in vitro</i> 3T3 NRU	Ambos se basan en la medición de viabilidad celular y se exponen a radiación UVA controlada y el otro se mantiene en completa oscuridad.	El ensayo de fototoxicidad usa fibroblastos de ratón, mientras que RhE usa epidermis humana reconstituida. El colorante que se usa para el 3T3 NRU es el rojo neutro, mientras que para el RhE se con MTT.
	Ensayo de fototoxicidad <i>in vitro</i> : Test de Epidermis Humana Reconstituida (RhE)		
Fotoalergia	Ensayo in vivo de parche repetido en humano (HRIPT)		Con diferencia al de sensibilización dérmica, el producto se expone a luz solar, mientras que en sensibilización dérmica no.

Una de las ventajas de los métodos alternativos es que muchos de los métodos que se realizaban en animales tenían deficiencias al momento de extrapolarse a los humanos, esto debido a las diferencias estructurales y fisiológicas. En un estudio realizado por Ram se analizaron 100 revisiones sistemáticas, en donde se encontró que el 75% de las revisiones tenían limitaciones significativas al tratar de predecir los resultados de enfermedades humanas o la seguridad a través de datos de animales. Todo lo anterior debido a que existían discrepancias entre las especies, metodología inadecuada, inconsistencias, parcialidad en las publicaciones, entre otros que llevaron a la exageración de los beneficios del uso de animales para probar la seguridad de los cosméticos, otra de las ventajas es el costo, debido a que las pruebas alternativas tratan de seguir el principio de las 3R's. Bottini y Hartung fueron los primeros en explorar los aspectos económicos de las pruebas en animales, ellos identificaron que muchas veces había pérdidas económicas al usar animales, un ejemplo es que se algunas veces se podían estar usando animales con hipersensibilidad, lo que resultaba en resultados falsos positivos, lo que hacía que las empresas desecharan reactivos, lo que conllevaba a grandes pérdidas de dinero, finalmente se ha encontrado que los nuevos métodos alternativos incrementaron la productividad, el crecimiento de las industrias cosméticas, la expansión del mercado, la mejora de los procesos de manufactura, entre otros (Meigs *et al.*, 2018).

Existe un estudio realizado en el 2018 por Hoffman y sus colaboradores en donde se mide la especificidad, sensibilidad y precisión de los métodos que se usan para la evaluación de la sensibilización dérmica (DPRA, KeratinoSens™, h-CLAT y U-SENS) en humanos, en este estudio se observa que el método DPRA es más específico que los

demás métodos (74.4%), mientras que U-SENS es el método más sensible (95.5%), finalmente h-CLAT demostró ser el método con mayor precisión (78%), estos datos podrían demostrar que estos métodos son eficientes y que en efecto pueden sustituir los métodos que usan animales y que las empresas pueden utilizar aquellos que cumplan con las necesidades de su empresa.

Para el caso de los demás métodos alternativos que evalúan irritabilidad dérmica, irritabilidad ocular, fototoxicidad y fotoalergia no se encontraron estudios que evalúen las características mencionadas en el párrafo anterior, por lo que podría considerarse necesario que de igual forma se evalúen los métodos utilizados en cada una de las pruebas, con la finalidad de tener una prueba para demostrar que en efecto los métodos son eficientes.

México en el dictamen menciona que los fabricantes tienen un lapso de 2 años para que los fabricantes sustituyan las pruebas cosméticas en animales por métodos alternativos para evaluar la seguridad y eficacia de los productos cosméticos, por lo que gracias a esto hay una mayor exigencia a las empresas para que estas paren completamente las pruebas en animales, además de que con la ayuda del proyecto de norma las empresas puedan empezar a trabajar acorde la regulación mexicana.

Como se ha discutido anteriormente existen ya muchos métodos alternativos validados que sustituyen los métodos que hacen uso de animales, todo esto debido a los grandes esfuerzos para promover el desarrollo y la aceptación regulatoria de los mismos a través de iniciativas defendidas por organizaciones no gubernamentales (ONG), asociaciones comerciales e industrias cosméticas. Esto ha llevado a grandes avances en el desarrollo

de los métodos que recientemente se han destacado en el presente. Sin embargo, es de suma importancia que de igual forma la población empiece a indagar más sobre esto y ejerza presión sobre estos temas.

3. CONCLUSIONES

- El cálculo de MoS es una evaluación preliminar con información toxicológica existente de cada ingrediente que en interacción con los demás ingredientes predice el riesgo que podría tener el producto cosmético tomando en consideración la dosis y el modo de uso al predecir este riesgo puede disminuir considerablemente el uso de los animales y que, gracias al dictamen, ésta es una de las estrategias que más pueden ayudar al hacer un análisis retrospectivo de todos los ingredientes que alguna vez ya fueron probados, para cumplir con la seguridad de acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud y el dictamen se debe de corroborar mediante pruebas *in vitro* mencionadas en el trabajo aprobadas por OCDE.
- El método U-SENS resultó ser el método con una mayor sensibilidad, mientras que el h-CLAT demostró tener mayor precisión, por lo que estos métodos podrían ser los de elección para el ensayo de sensibilización dérmica.
- Se necesita hacer más estudios para comparar la sensibilidad, precisión y especificidad de los métodos que se usan para los ensayos de irritabilidad ocular, dérmica, fototoxicidad y fotoalergia para determinar el método más eficiente.
- El HRIPT permite sustentar los claims de “hipoalergénico”, “probado por dermatólogos”, “no irritante” o “adecuado para pieles sensibles”.
- Con base en la experiencia de otros países y teniendo en cuenta toda la información generada por instituciones formales, México puede adoptar los métodos alternativos validados y aceptados regulatoriamente, sin embargo, sigue siendo un reto por el reducido número de empresas que se dedican a hacer las pruebas mencionadas.

4. REFERENCIAS

1. Adriaens, E., Verstraelen, S., Desprez, B., Alépée, N., Abo, T., Bagley, D., Hibatallah, J., Mewes, K. R., Pfannenbecker, U., & Van Rompay, A. R. (2021). Overall performance of Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Laser Light-Based Opacitometer (LLBO) test method with regard to solid and liquid chemicals testing. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 70, 105044. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.105044>
2. Alépée, N., Grandidier, M. H., Cotovio, J., & Organisation for Economic Co-operation and Development (2014). Sub-categorisation of skin corrosive chemicals by the EpiSkin™ reconstructed human epidermis skin corrosion test method according to UN GHS: revision of OECD Test Guideline 431. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 28(2), 131–145. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2013.10.016>
3. Api, A. M., Basketter, D. A., Cadby, P. A., Cano, M. F., Ellis, G., Gerberick, G. F., Griem, P., McNamee, P. M., Ryan, C. A., & Safford, R. (2008). Dermal sensitization quantitative risk assessment (QRA) for fragrance ingredients. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 52(1), 3–23. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.10.008>
4. Badía Villa, M. A. & García Miranda, E. (2012) *Cosmetología aplicada a la estética decorativa: Paraninfo, España.*
5. Bauer, A. (2017). Ensayos de seguridad y sustento de claims específicos: disposición ANMAT n°1108/99. Argentina: DELS. <https://salud.gob.ar/dels/entradas/ensayos-de-seguridad-y-sustento-de-claims-especificos-disposicion-anmat-no-110899>
6. Bauch, C., Kolle, S. N., Ramirez, T., Eltze, T., Fabian, E., Mehling, A., Teubner, W., van Ravenzwaay, B., & Landsiedel, R. (2012). Putting the parts together: combining in vitro methods to test for skin sensitizing potentials. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 63(3), 489–504. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.05.013>
7. Borenfreund, E., and Puerner, J.A. (1985). Toxicity determination in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicology Lett.*, 24, 119-124.
8. Bormann, J. L., & Maibach, H. I. (2021). Draize human repeat insult patch test (HRIPT): Seven decades of pitfalls and progress. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 121, 104867. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2021.104867>
9. Bottini, A. A., & Hartung, T. (2009). Food for thought... on the economics of animal testing. *ALTEX*, 26(1), 3–16. <https://doi.org/10.14573/altex.2009.1.3>
10. Boyer, I. J., Bergfeld, W. F., Heldreth, B., Fiume, M. M., & Gill, L. J. (2017). The

Cosmetic Ingredient Review Program-Expert Safety Assessments of Cosmetic Ingredients in an Open Forum. *International journal of toxicology*, 36(5_suppl2), 5S-13S. <https://doi.org/10.1177/1091581817717646>

11. Brunk, U. T., & Svensson, I. (1999). Oxidative stress, growth factor starvation and Fas activation may all cause apoptosis through lysosomal leak. *Redox report : communications in free radical research*, 4(1-2), 3–11. <https://doi.org/10.1179/135100099101534675> Diario Oficial de la Federación (2011), Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. Art. 187, 190, 192
12. Duch, J.G. (2018). Pruebas de cosméticos en animales: hacia una prohibición mundial. *Noticias Parlamento Europeo*. Recuperado de <https://www.europarl.europa.eu/news/es/headlines/society/20180216STO98005/pruebas-de-cosmeticos-en-animales-hacia-una-prohibicion-mundial>.
13. EC-ECVAM (1999), INVITOX Protocol 71: Fluorescein Leakage Test, Ispra, Italy: European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM). Extraído el 10 octubre 2019. Disponible: <http://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu>
14. EC-ECVAM (2008), Fluorescein Leakage Assay Background Review Document as an Alternative Method for Eye Irritation Testing. Extraído el 11 octubre 2019. Disponible: <http://ecvam.jrc.it/index.htm>
15. EC-ECVAM (2009), Statement on the scientific validity of cytotoxicity/cell-function based in vitro assays for eye irritation testing. Extraído el 11 octubre 2019. Disponible: <http://ecvam.jrc.it/index.htm>
16. EC-EURL-ECVAM (2013), Recommendation on the Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA) for the skin sensitisation testing. Extraído el 11 octubre 2019. Disponible: https://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam/eurl-ecvamrecommendations/eurl-ecvam-recommendaion-on-the-directpeptide-reactivity-assay-dpra.
17. Emter, R., van der Veen, J. W., Adamson, G., Ezendam, J., van Loveren, H., & Natsch, A. (2013). Gene expression changes induced by skin sensitizers in the KeratinoSens™ cell line: Discriminating Nrf2-dependent and Nrf2-independent events. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 27(8), 2225–2232. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2013.09.009>
18. EpiSkin™ (2011)SOP, INVITTOX Protocol (No. 118.). EpiSkin™ Skin Corrosivity Test. Extraído el 15 octubre 2019. Disponible: <http://www.ecvam.jrc.ec.europa.eu.hm>.
19. Fentem, J. H., Archer, G. E., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Esdaile, D. J., Holzhütter, H. G., & Liebsch, M. (1998). The ECVAM International Validation Study on In Vitro Tests for Skin Corrosivity. 2. Results and Evaluation by the

Management Team. *Toxicology in vitro* : an international journal published in association with BIBRA, 12(4), 483–524. [https://doi.org/10.1016/s0887-2333\(98\)00019-8](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(98)00019-8)

20. Fujita, M., Yamamoto, Y., Tahara, H., Kasahara, T., Jimbo, Y., & Hioki, T. (2014). Development of a prediction method for skin sensitization using novel cysteine and lysine derivatives. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 70(1), 94–105. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2014.06.001>
21. Gerberick, G. F., Vassallo, J. D., Bailey, R. E., Chaney, J. G., Morrall, S. W., & Lepoittevin, J. P. (2004). Development of a peptide reactivity assay for screening contact allergens. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 81(2), 332–343. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh213>
22. Gerberick, G. F., Vassallo, J. D., Foertsch, L. M., Price, B. B., Chaney, J. G., & Lepoittevin, J. P. (2007). Quantification of chemical peptide reactivity for screening contact allergens: a classification tree model approach. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 97(2), 417–427. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm064>
23. Gerberick, G. F., & Robinson, M. K. (2000). A skin sensitization risk assessment approach for evaluation of new ingredients and products. *American journal of contact dermatitis : official journal of the American Contact Dermatitis Society*, 11(2), 65–73. <https://doi.org/10.1053/ac.2000.3191>
24. Gildea, L. A., Ryan, C. A., Foertsch, L. M., Kennedy, J. M., Dearman, R. J., Kimber, I., & Gerberick, G. F. (2006). Identification of gene expression changes induced by chemical allergens in dendritic cells: opportunities for skin sensitization testing. *The Journal of investigative dermatology*, 126(8), 1813–1822. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700319>
- Hendriksen C. F. (2005). The ethics of research involving animals: a review of the Nuffield Council on Bioethics report from a three Rs perspective. *Alternatives to laboratory animals : ATLA*, 33(6), 659–662. <https://doi.org/10.1177/026119290503300604>
25. Gocht, T., Berggren, E., Ahr, H. J., Cotgreave, I., Cronin, M. T., Daston, G., Hardy, B., Heinzle, E., Hescheler, J., Knight, D. J., Mahony, C., Peschanski, M., Schwarz, M., Thomas, R. S., Verfaillie, C., White, A., & Whelan, M. (2015). The SEURAT-1 approach towards animal free human safety assessment. *ALTEX*, 32(1), 9–24. <https://doi.org/10.14573/altex.1408041>
26. Hoffmann, S., Kleinstreuer, N., Alépée, N., Allen, D., Api, A. M., Ashikaga, T., Clouet, E., Cluzel, M., Desprez, B., Gellatly, N., Goebel, C., Kern, P. S., Klaric, M., Kühnl, J.,

- Lalko, J. F., Martinozzi-Teissier, S., Mewes, K., Miyazawa, M., Parakhia, R., van Vliet, E., ... Petersohn, D. (2018). Non-animal methods to predict skin sensitization (I): the Cosmetics Europe database. *Critical reviews in toxicology*, 48(5), 344–358. <https://doi.org/10.1080/10408444.2018.1429385>
27. ICCVAM (2006). Test Method Evaluation Report - In Vitro Ocular Toxicity Test Methods for Identifying Ocular Severe Irritants and Corrosives. Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program (NTP) Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM). NIH Publication No.: 07-4517. Extraído el 1 noviembre 2019. Disponible: [http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/ocutox/ivocutox/ocu_tmmer.htm].
 28. ICCVAM (2010). ICCVAM Test Method Evaluation Report: Current Validation Status of In Vitro Test Methods Proposed for Identifying Eye Injury Hazard Potential of Chemicals and Products. NIH Publication No.10-7553. Research Triangle Park, NC:National Institute of Environmental Health Sciences. Extraído el 1 noviembre 2019. Disponible: [<http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/ocutox/MildMod-TMER.htm>].
 29. ICCVAM. (1999). Corrositex®. An In Vitro Test Method for Assessing Dermal Corrosivity Potential of Chemicals. The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by ICCVAM, NTP and NICEATM. NIEHS, NIH Publication (No. 99-4495.) Extraído el 1 noviembre 2019. Disponible: https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/dermal_docs/corprrep.pdf
 30. Issimi. (2017). La Industria cosmética en el mundo: situación actual y futuro. ISSÉIMI, Madrid. Extraído: 10 noviembre 2010. Disponible: <https://www.isseimi.es/blog/industria-cosmetica-mundo-2020/>
 31. Iwata, H., & Shimada, K. (2013). Formulas, ingredients and production of cosmetics : technology of skin- and hair-care products in Japan. Springer.
 32. Johansson, A. C., Appelqvist, H., Nilsson, C., Kågedal, K., Roberg, K., & Ollinger, K. (2010). Regulation of apoptosis-associated lysosomal membrane permeabilization. *Apoptosis : an international journal on programmed cell death*, 15(5), 527–540. <https://doi.org/10.1007/s10495-009-0452-5>
 33. Kaluzhny, Y., Kandárová, H., d'Argembeau-Thornton, L., Kearney, P., & Klausner, M. (2015). Eye Irritation Test (EIT) for Hazard Identification of Eye Irritating Chemicals using Reconstructed Human Cornea-like Epithelial (RhCE) Tissue Model. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (102), e52979. <https://doi.org/10.3791/52979>
 34. Kandárová, H., and Liebsch, M. (2017) The EpiDerm™ Phototoxicity Test (EpiDerm™

- H3DPT). Book Chapter In: Alternatives for Dermal Toxicity Testing, Editors: ChantraEskes, Erwin van Vliet, Howard I. Maibach. Springer. 483-503
35. Kimber, I., Basketter, D. A., Berthold, K., Butler, M., Garrigue, J. L., Lea, L., Newsome, C., Roggeband, R., Steiling, W., Stropp, G., Waterman, S., & Wiemann, C. (2001). Skin sensitization testing in potency and risk assessment. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 59(2), 198–208. <https://doi.org/10.1093/toxsci/59.2.198>
 36. Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, Sección 201. Extraído: 23 noviembre 2019. Disponible: [https://www.fda.gov/media/96700/download#:~:text=La%20Ley%20Federal%20de%20Alimentos,modificar%20la%20apariciencia%20\(E%20Ley%20Federal](https://www.fda.gov/media/96700/download#:~:text=La%20Ley%20Federal%20de%20Alimentos,modificar%20la%20apariciencia%20(E%20Ley%20Federal)
 37. Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, Sección 201. Extraído: 23 noviembre 2019. Disponible: <https://www.fda.gov/media/101035/download>
 38. Ley General de Salud (2022). Extraído el 10 diciembre 2019. Disponible: https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf_mov/Ley_General_de_Salud.pdf
 39. Liebsch M.(1997). Standard Operation Procedure. EpiDerm™ Phototoxicity Assay (model: Epi-200). Final version. 5 Novemb. 97. 28 p Annex 3 to the Final Report. Extraído: 13 enero 2020. Disponible: <https://tsar.jrc.ec.europa.eu/test-method/tm1997-02>
 40. Liebsch, M., Traue, D., Barrabas, C., Spielmann, H., Gerberick, G.F., Cruse, L., Diembeck, W., Pfannenbecker, U., Spieker, J., Holzhütter, H.G., Brantom, P., Aspin, P., and Southee, J. (1999). In Alternatives to Animal Testing II: Proceedings of the second international scientific conference organised by the European Cosmetic Industry, Brussels, Belgium (ed. D. Clark, S. Lisansky & R. Macmillan), pp. 160–166. Newbury, UK: CPL Press
 41. Madrid-Alaníz, D.F. Análisis comparativo de la regulación de cosméticos entre la Unión Europea, Brasil y México. Propuesta de aplicación en la regulación Mexicana [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México.
 42. Meigs, L., Smirnova, L., Rovidia, C., Leist, M., & Hartung, T. (2018). Animal testing and its alternatives - the most important omics is economics. *ALTEX*, 35(3), 275–305. <https://doi.org/10.14573/altex.1807041>
 43. Mikkelsen, T. J., Chrai, S. S., & Robinson, J. R. (1973). Altered bioavailability of drugs in the eye due to drug-protein interaction. *Journal of pharmaceutical sciences*, 62(10), 1648–1653. <https://doi.org/10.1002/jps.2600621014>
 44. Nakajima, Y., Kimura, T., Sugata, K., Enomoto, T., Asakawa, A., Kubota, H., Ikeda, M.,

- & Ohmiya, Y. (2005). Multicolor luciferase assay system: one-step monitoring of multiple gene expressions with a single substrate. *BioTechniques*, 38(6), 891–894. <https://doi.org/10.2144/05386ST03>
45. OECD (2012), The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins. Part 1: Scientific Evidence, Series on Testing and Assessment No. 168, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Extraído: 14 diciembre 2022. Disponible: [at:http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2012\)10/PART1&docLanguage=En](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2012)10/PART1&docLanguage=En)
 46. OECD (2013). Streamlined Summary Document supporting the Test Guideline 437 for eye irritation/corrosion. Series on Testing and Assessment, No.189, OECD, Paris. Extraído: 10 febrero 2021. Disponible: https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/Draft%20Updated%20TG%20437_LLBO_Nov%202019_clean.pdf
 47. OECD (2017). Test Guideline 405. OECD Guideline for Testing of Chemicals. Acute eye irritation/corrosion. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, France. Extraído: 10 febrero 2021. Disponible: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788.
 48. OECD (2018). Guidance Document on an Integrated Approaches on Testing and Assessment for Serious Eye Damage and Eye irritation. Series on Testing and Assessment No.263. ENV Publications, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Extraído: 10 febrero 2021. Disponible: [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV-JM-MONO\(2017\)15/REV1%20&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV-JM-MONO(2017)15/REV1%20&doclanguage=en)
 49. OECD (2017), To be published - Performance Standards for the assessment of proposed similar or modified in vitro skin sensitization IL-8 luc test methods. OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment. OECD, Paris, France. Extraído: 10 febrero 2021. Disponible: <https://www.oecd.org/env/ehs/testing/IL-8%20Luc%20assay%20-%20PS%20201612.pdf>
 50. OECD (2018). OECD Key event based test Guideline 442E: In vitro Skin Sensitization Assays Addressing the Key Event on Activation of Dendritic Cells on the Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitization. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Extraído: 10 febrero 2021. Disponible: <https://read.oecd->

- [ilibrary.org/environment/test-no-442e-in-vitro-skin-sensitisation_9789264264359-en](https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-442e-in-vitro-skin-sensitisation_9789264264359-en)
51. OECD. (2020). OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No. 439): In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Extraído: 10 febrero 2021. Disponible: https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-439-in-vitro-skin-irritation-reconstructed-human-epidermis-test-method_9789264242845-en
 52. OECD (2019). OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No. 431): In Vitro Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis Test Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Extraído: 11 febrero 2021. Disponible: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-431-in-vitro-skin-corrosion-reconstructed-human-epidermis-rhe-test-method_9789264242753-en
 53. OECD (2022), Test No. 442C: In Chemico Skin Sensitisation: Assays addressing the Adverse Outcome Pathway key event on covalent binding to proteins, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. Extraído: 14 diciembre 2022. Disponible: <https://doi.org/10.1787/9789264229709-en>.
 54. Oliver, G. J., Pemberton, M. A., & Rhodes, C. (1988). An in vitro model for identifying skin-corrosive chemicals. I. Initial validation. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 2(1), 7–17. [https://doi.org/10.1016/0887-2333\(88\)90031-8](https://doi.org/10.1016/0887-2333(88)90031-8)
 55. Piroird, C., Ovigne, J. M., Rousset, F., Martinozzi-Teissier, S., Gomes, C., Cotovio, J., & Alépée, N. (2015). The Myeloid U937 Skin Sensitization Test (U-SENS) addresses the activation of dendritic cell event in the adverse outcome pathway for skin sensitization. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 29(5), 901–916. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.03.009>
 56. Ram, R. Extrapolation of Animal Research Data to Humans: An Analysis of the Evidence. In *Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change*; Herrmann, K., Jayne, K., Eds.; Brill: Boston, MA, USA, 2019; Volume 22, pp. 341–375.
 57. Reglamento (CE) No 1223/2009 Del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de noviembre de 2009 sobre los productos cosméticos.
 58. R.S. Settivari, J.C. Rowlands, D.M. Wilson, S.M. Arnold, P.J. Spencer (2017). Chapter 32 - Application of Evolving Computational and Biological Platforms for Chemical Safety Assessment, 843-873.
 59. Ryan, C. A., Gildea, L. A., Hulette, B. C., Dearman, R. J., Kimber, I., & Gerberick, G. F. (2004). Gene expression changes in peripheral blood-derived dendritic cells following exposure to a contact allergen. *Toxicology letters*, 150(3), 301–316.

<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.02.002>

60. Robinson, M. K., Stotts, J., Danneman, P. J., Nusair, T. L., & Bay, P. H. (1989). A risk assessment process for allergic contact sensitization. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 27(7), 479–489. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(89\)90036-7](https://doi.org/10.1016/0278-6915(89)90036-7)
61. Rogiers V. (2019). Practical aspects of making a product information file according to the eu legislation. Extraído el 6 diciembre 2022. Disponible: <https://api.pks.rs/storage/assets/PRACTICAL%20ASPECTS%20OF%20MAKING%20A%20PRODUCT%20INFORMATION%20FILE%20ACCORDING%20TO%20THE%20EU%20LEGISLATION.pdf>
62. SCCNFP (2000) SCCNFP/0120/99, Final: Opinion concerning the predictive testing of potentially cutaneous sensitizing cosmetic ingredients or mixtures of ingredients adopted by the SCCNFP during the 11th plenary session of 17 February 2000. Extraído el 15 octubre 2019. Disponible: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/docshtml/sccp_out102_en.htm
63. Secretaría de Salud. (2010). Acuerdo por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza. México. Extraído el 10 mayo 2022. Disponible: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5143790&fecha=21/05/2010
64. Secretaría de Salud. (2012). Norma Oficial Mexicana NOM-141-SSAI-2012, Etiquetado para productos cosméticos preenvasados, etiquetado sanitario y comercial. México. Extraído: 16 mayo 2022 Disponible: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5269348&fecha=19/09/2012
65. Secretaría de Salud. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-089-SSAI-1994, Bienes y servicios. Métodos para la determinación del contenido microbiano en productos de belleza. México. Extraído: 16 mayo 2022 Disponible: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69530.pdf>
66. Secretaría de Salud. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSAI-1993, Bienes y servicios. Productos de perfumería y belleza. Determinación de los índices de irritación ocular, primaria dérmica y sensibilización. México. Extraído: el 16 mayo 2022. Disponible: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ssa1/ssa1039c.pdf>
67. Secretaría de Salud. (2014). Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. Reglamento No. DOF-14-02-2014. México. Extraído: 16 mayo 2022. Disponible: https://hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/dirgral/marco_juridico/reglamentos/regla_control_sanitario_produc_servicios.pdf

68. Silva RJ, Tamburic S. (2022) A State-of-the-Art Review on the Alternatives to Animal Testing for the Safety Assessment of Cosmetics. *Cosmetics*, 9(5):90. <https://doi.org/10.3390/cosmetics9050090>
69. Shai, A., Maibach, H. & Baran, R. (2009). *Handbook of cosmetic skin care*. Informa healthcare, United Kingdom.
70. Takahashi, Y., Koike, M., Honda, H., Ito, Y., Sakaguchi, H., Suzuki, H., & Nishiyama, N. (2008). Development of the short time exposure (STE) test: an in vitro eye irritation test using SIRC cells. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 22(3), 760–770. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.11.018>
71. Takahashi, T., Kimura, Y., Saito, R., Nakajima, Y., Ohmiya, Y., Yamasaki, K., & Aiba, S. (2011). An in vitro test to screen skin sensitizers using a stable THP-1-derived IL-8 reporter cell line, THP-G8. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 124(2), 359–369. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr237>
72. TER SOP. (2008). INVITTOX Protocol (No. 115.) Rat Skin Transcutaneous Electrical Resistance (TER) Test. Extraído: 10 junio 2022. Disponible: <http://www.ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/>.
73. United nations (UN) (2017). Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), Seventh revised edition, UN New York and Geneva, 2017. Extraído: 10 junio 2022. Disponible: https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev07/English/03_part3.pdf.
74. United Nations (UN) (2021), Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Fifth revised edition, UN New York and Geneva, 2021. Available at: [https://unece.org/sites/default/files/2021-09/GHS_Rev9E_0.pdf]
75. Urbisch, D., Mehling, A., Guth, K., Ramirez, T., Honarvar, N., Kolle, S., Landsiedel, R., Jaworska, J., Kern, P. S., Gerberick, F., Natsch, A., Emter, R., Ashikaga, T., Miyazawa, M., & Sakaguchi, H. (2015). Assessing skin sensitization hazard in mice and men using non-animal test methods. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 71(2), 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.12.008>
76. US Food and Drug Administration (2017). FDA authority over cosmetics: how cosmetics are not FDA-approved but are FDA-regulated. United States. Extraído: 10 junio 2022. Disponible: <https://www.fda.gov/Cosmetics/GuidanceRegulation/LawsRegulations/um074162.htm>. U
77. Verstraelen, S., Jacobs, A., De Wever, B., & Vanparys, P. (2013). Improvement of the

Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay as an in vitro alternative to the Draize rabbit eye irritation test. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 27(4), 1298–1311. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2013.02.018>

78. Wasserman, W. W., & Fahl, W. E. (1997). Comprehensive analysis of proteins which interact with the antioxidant responsive element: correlation of ARE-BP-1 with the chemoprotective induction response. *Archives of biochemistry and biophysics*, 344(2), 387–396. <https://doi.org/10.1006/abbi.1997.0215>
79. Wilkinson, P.J. (2006), Development of an in vitro model to investigate repeat ocular exposure, Ph.D. Thesis, University of Nottingham, UK. Extraído: 22 Junio 2022. Disponible: <https://eprints.nottingham.ac.uk/30561/>
80. World Health Organization. Regional Office for Europe. (2000). Air quality guidelines for Europe, 2nd ed.. World Health Organization. Regional Office for Europe. Extraído: 22 Junio 2022. Disponible: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/107335>
81. Yablonski J.I., S.E. Mancuso. (2002). Preservation of “atypical” cosmetic product systems: *Cosm & Toil*, 117(4), 31.

5. APÉNDICE

Tabla 10. Lista indicativa de denominaciones para los productos objeto de la NOM-141-SSA1/SCFI-2012.

CLASIFICACIÓN POR USO	DENOMINACIÓN GENÉRICA
PRODUCTOS PARA EL CABELLO	
	Acondicionador
	Alaciador
	Brillo/Gloss/Glitter
	Decolorante
	Desvanecedor de canas
	Enjuague
	Estilizador
	Fijador
	Máscara o Mascarilla
	Modelador
	Matizador/Tonalizante
	Ondulador
	Permanente
	Shampoo/Champú
	Tinte/Colorante/coloración
	Protector/Tratamiento
	Protector o Filtro solar
	Retocador de raíces
PRODUCTOS PARA LOS OJOS Y CEJAS	
	Adhesivos para pestañas postizas
	Brillo/Gloss/Glitter
	Corrector
	Delineador
	Desmaquillante
	Máscara
	Sombras
	Tratamiento
PRODUCTOS PARA LOS LABIOS	
	Brillo/Gloss/Glitter
	Delineador
	Desmaquillante
	Labial

	Protector o Filtro solar
PRODUCTOS DE USO FACIAL Y/O CORPORAL	
	Aclarador o despigmentante de piel
	Agua de colonia
	Agua de tocador
	Antitranspirante
	Autobronceador (Bronceado sin sol)
	Baños de burbujas o baños perfumados
	Brillo/Glitter
	Bronceado
	Colonia
	Corrector
	Decolorante del vello superfluo
	Depilatorio
	Desmaquillante
	Desodorante
	Dermolimpiador
	Epilatorio
	Exfoliante
	Limpiadora o Limpiador
	Maquillaje
	Mascarilla
	Perfume
	Protector o Filtro solar
	Repelente de insectos
	Rubor
	Sales para baño
	Splash
	Talco
	Tratamiento
PRODUCTOS PARA MANOS Y UÑAS	
	Adhesivos para uñas postizas
	Barniz o esmalte
	Disolvente de esmalte o barniz
	Endurecedor
	Exfoliante o exfoliador
	Removedor de cutícula
	Quitaesmalte

	Secador de esmalte
	Tratamiento
PRODUCTOS DE AROMACOLOGIA O AROMALOGIA SEGÚN SU FORMA COSMÉTICA	

Tabla 11. Clasificación de cosméticos por la forma cosmética de la NOM-141-SSA1/SCFI-2012.

CLASIFICACIÓN POR FORMA COSMÉTICA	
	Aceite
	Bálsamo
	Cápsulas
	Crema
	Emulsión
	Espuma
	Fluido
	Gel/jalea
	Jabón
	Jabón líquido
	Lápiz
	Leche
	Loción/Tónico/Solución
	Mousse
	Parches
	Polvo
	Pomada
	Roll on
	Spray
	Shampoo/Champú
	Serum
	Stick/barra
	Suero
	Tratamiento
	Toallita

Tabla 12. Productos que requieren pruebas para demostrar inocuidad.

	Índice de irritación primaria dérmica	Índice de sensibilización	Índice de irritación ocular
Cuidado y fijadores para cabello	✓		
Coloración progresiva/temporal y decoloración capilar	✓	✓	
Depilación	✓	✓	
Desodorantes y Antitranspirantes	✓	✓	
Jabones y shampoo para niños	✓	✓	✓
Productos para baño	✓		✓
Lociones, aceites, cremas, maquillajes y correctores,	✓		✓
Lociones, aceites, cremas para niños	✓	✓	
Productos y maquillaje de ojos	✓		✓
Perfumes y aromas	✓	✓ Fotosensibilización	
Polvos y talcos	✓		
Productos para antes y después de afeitarse	✓	✓	
Productos para labios y rubores	✓	✓	
Productos para limpieza de manos	✓	✓	
Protectores solares y autobronceadores	✓	✓ Fotosensibilización	
Uñas, adhesivos uñas postizas y cutícula	✓		
Tintes permanentes, permanentes y alaciadores	✓	✓	