

PERFORMANCE DO ENSAIO DA MEMBRANA CÓRION-ALANTÓIDE CORADA PELO AZUL TRIPAN (CAM-TBS) FRENTE A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO TENSOATIVO DODECIL SULFATO DE SÓDIO (SDS) PARA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL IRRITANTE OCULAR DE PRODUTOS COSMÉTICOS E SANEANTES

Silva R.S.¹; Ribeiro V.L. ¹; Caldeira. C.¹; Presgrave. O.A.F.¹; Delgado I.F.¹

¹Departamento de Farmacologia e Toxicologia. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde.

Introdução: A partir dos anos 80 a membrana córion-alantóide (CAM) de ovos embrionados de galinha tornou-se um modelo de estudo do potencial irritante ocular de substâncias e produtos. O primeiro teste desenvolvido foi o HET-CAM, que sofre críticas, devido sua baixa especificidade e subjetividade da resposta. A coloração da CAM com azul tripan foi proposta, a fim de obter um resultado quantitativo para o teste, porém algumas características da metodologia devem ser estudadas, principalmente no que diz respeito ao comportamento da CAM frente aos diferentes tensoativos e solventes utilizados em produtos cosméticos e saneantes.

Objetivo: Determinar através de uma curva dose-resposta de SDS alguns parâmetros de performance do CAM-TBS.

Materiais e Métodos: Foi realizado levantamento dos resultados dos ensaios de irritação ocular *in vivo* com SDS realizados no INCQS. No CAM-TBS foram testadas 10 diluições de SDS (0,03 a 15%) utilizando para cada 4 ovos, com 10 dias de incubação. Sobre a CAM foram aplicados 200µL das diluições por 20 segundos e retirados com água destilada. A CAM foi corada com azul tripan 0,1% por 1 minuto, em seguida foi removida e o corante absorvido foi extraído com formamida. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 590nm. Uma curva de calibração de azul tripan foi utilizada para cálculo da quantidade de corante absorvido.

Resultados e Discussão: No ensaio *in vivo* foram obtidos os resultados “não irritante” para as concentrações de 0,5, 1 e 2%, “irritante leve” para 4% e “irritante moderado” para 8%. No ensaio *in vitro* a curva concentração x quantidade de corante apresentou faixa linear entre as concentrações de 0,03 e 1%. O coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,709 para este trecho da curva e que pode ser melhorado para 0,754 quando a quantidade de corante era expressa por grama de CAM. Acima de 1% a curva apresentou um platô com um ligeiro decréscimo a medida que se aumenta a concentração. Isto pode ser explicado, pois quanto maior a quantidade de tensoativo aplicado na membrana, maior a interação com os lipídeos e outras moléculas constituintes da mesma provocando sua degradação. Outro fator importante é que na faixa linear só é possível identificar as concentrações não irritantes no teste *in vivo*.

Conclusão: O teste CAM-TBS apresentou uma estreita faixa linear para diferentes concentrações de SDS, sendo que esta recai sobre as concentrações que não apresentaram irritação nos testes *in vivo*, sendo um indicativo de que este ensaio deva ser utilizado para verificar a ausência de potencial irritante. Ainda é necessário estudos com outros tensoativos para verificar o comportamento do teste e definir um modelo preditivo para o mesmo, como por exemplo a criação de um fator de diluição para realizar o ensaio com produtos acabados.

Agradecimentos: PIBIC - FIOCRUZ.