

IRRITABILIDAD DÉRMICA Y OFTÁLMICA *in vivo* DE UNA FORMULACIÓN COSMÉTICA CON ACTIVOS NATURALES

DERMAL AND OPHTHALMIC IRRITABILITY *in vivo* OF A COSMETIC FORMULATION WITH NATURAL ACTIVES

Odaimis Mena Alvarez^a, *(0000-0003-2831-8603)
Yudit Rodríguez Coipel^a (0000-0003-1878-8396)
Aníbal Domínguez Odio^a (0000-0003-2243-7150)
Caridad C. Rodríguez Torres^a (0000-0002-1454-5904)
María R. Pérez Capote^a (0000-0001-7322-4425)
Iranía Guevara Orellanes^a (0000-0002-7994-3137)
Mírra Fernández Cervera^b (000-0001-6537-3367)

^a Grupo Empresarial de Producciones Biofarmacéuticas y Químicas en su forma abreviada LABIOFAM. Boyeros, La Habana, Cuba.

^b Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. La Lisa, La Habana, Cuba.

*^a esp25.desarrollo@labiofam.cu

Recibido: 20 de diciembre de 2023;

Aceptado: 21 de mayo de 2024;

RESUMEN

El propóleo es una resina cerosa de consistencia viscosa obtenida por *Apis mellifera*, que tiene asociado diversos efectos: acción antimicrobiana, analgésica, antiinflamatoria, antioxidante y cicatrizante. Ha sido incorporado en disímiles formulaciones para uso humano. La sericina es una proteína globular que se obtiene a partir de los capullos del gusano de seda *Bombyx mori* y tiene aplicaciones en la industria cosmética por sus propiedades antioxidantes. **Objetivo:** Determinar la irritabilidad dérmica y oftálmica de una crema cosmética que contiene hidrolizado de sericina y propóleos. **Materiales y Métodos:** Se utilizó lote experimental de la crema cosmética y 6 conejos machos de la línea Cenp: NZW con peso corporal 1,8 kg, según establece la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD 2012;2015). Se cumplieron los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio y los principios éticos para evitar sufrimiento a los animales durante la experimentación. En la piel como en las estructuras oculares los efectos fueron observados inmediatamente después de la aplicación a las 1, 24, 48 y 72 horas. Se aplicó la escala Draize para evaluar las lesiones. **Resultados:** La formulación cosmética, no resulta irritante dérmico ni oftálmico; alcanzándose valores de índice de irritabilidad dérmica y oftálmica igual a 0 en los conejos ensayados. **Conclusiones:** La crema cosmética con los activos naturales hidrolizado de sericina y propóleos cumple con los requisitos para ser utilizada de forma corporal en posibles consumidores.

Palabras clave: crema cosmética; toxicología; conejos; irritación dérmica; irritación oftálmica.

ABSTRACT

Propolis is a waxy resin of viscous consistency obtained by *Apis mellifera*, which has several associated effects: antimicrobial, analgesic, anti-inflammatory, antioxidant and healing action. It has been incorporated in various formulations for human use. Sericin is a globular protein obtained from the cocoons of the silkworm *Bombyx mori* and has applications in the cosmetic industry for its antioxidant properties. **Objective:** To determine the dermal and ophthalmic irritancy of a cosmetic cream containing sericin hydrolysate and propolis. **Materials and Methods:** Experimental batch of the cosmetic cream and 6 male rabbits of the Cenp: NZW line with body weight 1.8 kg, as established by the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD 2012;2015), were used. The principles of Good Laboratory Practices and ethical principles to avoid animal suffering during experimentation were complied with. In the skin as in the ocular structures the effects were observed immediately after application at 1, 24, 48 and 72 hours. The Draize scale was used to evaluate the lesions. **Results:** The cosmetic formulation is neither dermal nor ophthalmic irritant; dermal and ophthalmic irritability index values equal to 0 were reached in the tested rabbits. **Conclusions:** The cosmetic cream with the natural active ingredients sericin hydrolysate and propolis meets the requirements for bodily use on potential consumers.

Keywords: cosmetic cream; toxicology; rabbits; dermal irritation; ophthalmic irritation.

INTRODUCCIÓN

Desde el principio de la humanidad, existe una tendencia a la modificación externa del aspecto. Para cuidar la piel, las diferentes civilizaciones utilizaron productos minerales, de origen animal y plantas (González & Bravo, 2017). A nivel mundial persiste el interés por el uso, producción y comercialización de productos naturales en el mercado cosmético (Aoki M. *et al.*, 2005; Loza *et al.*, 2011; Mora, 2013). En este contexto la investigación científica se orienta al aprovechamiento de estas fuentes para la obtención de nuevos cosmeceúticos y demostrar seguridad para los consumidores (Brugés & Reguero, 2007; Casado *et al.*, 2014; Padilla *et al.*, 2015; Márquez, 2021;).

Los estudios toxicológicos de corte experimental constituyen un paso imprescindible en la ruta crítica, por la cual necesitan transitar antes de su comercialización (Repetto & Repetto, 2009). Estas exigencias son aplicables para el hidrolizado de sericina (Villa *et al.*, 2021) y propóleos (Pérez *et al.*, 2003; Navarro *et al.*, 2018; Rodríguez *et al.*, 2020; Seijo *et al.*, 2022). Ambos grupos de compuestos tienen en común no solo el hecho de ser derivados de organismos vivos como el gusano de seda (*Bombyx mori*) (Pérez *et al.*, 2017), y las abejas (*Apis mellifera*) (Peña, 2008; Masaquiza *et al.*, 2023), sino además de poseer múltiples actividades biológicas (Quintana *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2008; Barajas *et al.*, 2016; Tito *et al.*, 2017; Chango, 2018; Dong *et al.*, 2020; Becerra *et al.*, 2022). Diversas instituciones han incorporado al propóleo en disímiles formulaciones cosméticas como: pastas dentífricas, depilatorias, cremas, lociones de tocador, colcrem, jabones, lociones para después de afeitarse, champús, desodorantes, geles, y protector solar (Asis, 1999; Soares Dos Reis *et al.*, 2009; Benavidez, 2017). También, la sericina se ha sugerido como materia prima en cosméticos para uso externo porque actúa en la síntesis de colágeno y retención de la humedad en la epidermis (Mandal & Kundu, 2009; Aramwit *et al.*, 2010).

Para el uso y comercialización de un producto cosmético a base de hidrolizado de sericina y propóleos se debe cumplimentar una serie de requisitos regulatorios en concordancia con las legislaciones internacionales para los cosméticos. Entre la serie de indicadores toxicológicos se encuentran los ensayos de irritabilidad dérmica e irritabilidad oftálmica que garantizan, dentro del margen de error que siempre trae aparejada la extrapolación del animal al hombre, que los productos que resulten no irritantes, no lo serán potencialmente en el hombre (Manual de Indicadores Sanitarios, 2009).

Sobre esta base, el objetivo de este estudio fue demostrar *in vivo* la posible irritabilidad dérmica y oftálmica de una nueva crema cosmética con activos naturales para su posterior uso en humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación de estudio

Formulación semisólida elaborada a partir de hidrolizado de sericina y propóleos. Lote: 2209001E, procedente de las instalaciones de la Unidad de Desarrollo e Innovación perteneciente a la Empresa GENIX-LABIOFAM, La Habana, Cuba.

El producto cumplió con las especificaciones de calidad establecidas según proceso tecnológico establecido (tabla 1) y fue envasado en tubos colapsibles de polietileno de alta densidad, con tapa y sello de aluminio que garantiza la inviolabilidad del envase, conteniendo 60g del producto. Todos los recipientes se mantuvieron almacenados a temperatura de 30°C ± 2°C, humedad relativa de 75 % ± 5% y protegidos de los rayos del sol hasta el momento de su utilización.

Tabla 1. Especificaciones de calidad de la crema cosmética a base de hidrolizado de sericina y propóleos

| Parámetros | Especificaciones |
|-----------------|--|
| Organolépticos | Semisólido homogéneo, libre de grumos y partículas extrañas, color beige, olor característico a la fragancia utilizada |
| pH | 6,5 – 7,5 |
| Densidad | 0,867 – 0.898 g/mL |
| Microbiológicos | 1000 UFC de microorganismos aerobios mesófilos en 0,1 gramo del producto Ausencia de <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium</i> spp., hongos y levaduras |

Fuente: Unidad de Desarrollo e Innovación perteneciente a GENIX-LABIOFAM, Cuba.

Modelos experimentales

Animales: Se utilizaron seis conejos machos de la línea conejos Cenp: NZW seleccionados al azar, aparentemente sanos, de peso corporal promedio 1,8 kg, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, La Habana, Cuba). El conejo es la especie de animal de laboratorio de elección para los ensayos de irritabilidad según establece la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD 2012; 2015). El manejo de los animales se realizó de acuerdo a lo establecido en el reglamento del Decreto-Ley 31 de Bienestar Animal en Cuba (GOC-2021-332-EX25, 2021), de igual forma los protocolos de estudio fueron aprobados por la Comisión de Ética del Centro de Estudio para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas (CEIEB, UH, La Habana, Cuba).

Condiciones ambientales y de alojamiento

Los conejos, antes del inicio del estudio se mantuvieron en cuarentena durante 7 días, en condiciones de temperatura $22 \pm 1^\circ\text{C}$ y humedad $50 \pm 5\%$, con un ciclo de luz-oscuridad de 12x12 horas. Fueron alojados de forma individual en jaulas y se les suministró una dieta convencional CMO 1400 y agua *ad libitum*.

Irritabilidad dérmica

Se seleccionaron tres conejos para el estudio de irritabilidad dérmica según lo establece la normativa No. 404 de la OECD (2015). Los conejos fueron rasurados en el área dorsal, en ambos lados de la columna vertebral, 24 horas antes de iniciarse el experimento. Se tomaron todas las precauciones necesarias para no dañar la piel. Transcurrido el tiempo señalado, se procedió a la aplicación de 0,5 g de la formulación cosmética (hidrolizado de sericina y propóleos) a evaluar. Luego, los sitios de aplicación se cubrieron con un parche de gasa y fueron adheridos a la piel con la ayuda de una cinta adhesiva hipoalérgica. Los animales permanecieron durante cuatro horas, etapa en que los animales permanecieron en el cepo para evitar su acceso al parche y que pudieran ingerir o inhalar el producto. Transcurridas las cuatro horas de exposición al producto, se remueve el parche, la zona de aplicación se lavó con solución salina fisiológica, sin provocar alteraciones en la superficie de la piel. Las reacciones en la piel como eritema y edema fueron evaluadas a las 1; 24; 48 y 72 h después de la remoción del parche y fueron graduadas con valores entre 0 y 4 de acuerdo con la tabla 2 descrita por Draize et al. (1944). Posteriormente se calculó el índice de irritación primaria (IIP) y se efectuó teniendo en cuenta las observaciones de las 24, 48 y 72 h después de la remoción del parche. Para ello se dividió la suma de estos resultados de 24 h + 48 h + 72 h, para eritema y edema, entre 9 (tres conejos y tres días en el que se realizaron las observaciones). Finalmente, se siguió el criterio de clasificación descrito en la tabla 3. Al finalizar el estudio, a los animales se les practicó la eutanasia con una sobredosis de 200mg/Kg del anestésico inyectable pentobarbital, siguiendo los procedimientos establecidos por European Commission Guidance Document (2010).

Tabla 2. Escala utilizada para evaluar las lesiones dérmicas (eritema y edema) en el modelo experimental expuesto a la formulación cosmética en estudio

| Tipo de lesión | Escala |
|--|--------|
| Eritema | |
| Sin lesión aparente | 0 |
| Muy ligero (poco perceptible) | 1 |
| Bien definido | 2 |
| Moderado a severo | 3 |
| Severo con formación de úlceras + costras | 4 |
| Edema | |
| Sin lesión aparente | 0 |
| Poco perceptible | 1 |
| Ligero (bordes o área bien definidas) | 2 |
| Moderado (elevación ≤ 1 mm) | 3 |
| Severo (área extensa y elevación > 1 mm) | 4 |

Fuente: OECD, 2015

Tabla 3. Clasificación de las sustancias según el índice de irritación dérmica primaria

| Puntuación media | Categoría |
|------------------|--------------------|
| 0-0.4 | No irritante |
| 0.5-1.9 | Irritante ligero |
| 2.0-4.9 | Irritante moderado |
| 5.0-8.0 | Irritante severo |

Fuente: Norma Cubana. UNE en ISO 10993-10:2015.8-13, 2015

Irritabilidad oftálmica

Se seleccionaron tres conejos para el ensayo de irritabilidad oftálmica, según lo establece la normativa No. 405 de la OECD (2012), previa rigurosa observación de las estructuras oculares (córnea, iris y conjuntiva) 24 horas antes del inicio del ensayo. El daño corneal fue observado con el empleo de una solución de fluoresceína sódica al 2 %, y una lámpara con filtro de luz violeta. La cantidad de 0,1 g de la crema cosmética (hidrolizado de sericina y propóleos), se aplicó en el saco conjuntival del ojo derecho, después de haber sido proyectado ligeramente el párpado inferior hacia afuera. Culminada la aplicación, los párpados fueron mantenidos juntos durante un segundo para evitar la pérdida de la sustancia. Transcurrida una hora de aplicada, al no eliminarse el semisólido totalmente por mecanismos fisiológicos, se procedió a enjuagar el ojo con solución salina. El ojo contralateral (izquierdo) fue tomado como control y no recibió tratamiento alguno.

Se examinaron los ojos de cada animal (conjuntiva, iris y córnea) a la 1, 24, 48 y 72 horas posteriores a la administración con el fin de detectar daños en las estructuras antes mencionadas. Las observaciones se realizaron con luz blanca para detectar presencia de eritema, edema y secreciones anormales además de la reacción del iris a la luz, seguido del examen de la córnea por la tinción con fluoresceína y la observación con lámpara UV. Las reacciones oculares observadas fueron evaluadas según la escala de Draize *et al.* (1944), como se muestra en la tabla 4. Posteriormente se calculó el índice de irritación ocular (IIO). Para el cálculo del IIO se determinó la suma de todas las observaciones en las tres estructuras analizadas (córnea, iris y conjuntiva) en los tiempos prefijados y este valor fue dividido entre 12 (3 estructuras, 4 tiempos de evaluación). Se siguió el criterio de clasificación descrito por García *et al.* (1988), el cual se resume en la tabla 5. Al finalizar el estudio, a los animales se les practicó la eutanasia con una sobredosis de 200mg/Kg del anestésico inyectable pentobarbital, siguiendo los procedimientos establecidos por European Commission Guidance Document (2010).

Tabla 4. Escala utilizada para evaluar las lesiones oftálmicas expuestas a la formulación cosmética en estudio

| Tipo de lesión | Escala |
|--|--------|
| Córnea | |
| Opacidad con áreas dispersas e iris visible | 1 |
| Opacidad con áreas translúcidas | 2 |
| Opacidad con áreas opalescentes | 3 |
| Opacidad con áreas opacas e iris invisible | 4 |
| Iris | |
| Reacción a la luz | 1 |
| No reacción a la luz | 2 |
| Conjuntiva | |
| Enrojecimiento normal | 1 |
| Enrojecimiento rojo carmesí | 2 |
| Enrojecimiento rojo difuso | 3 |
| Sin inflamación | 1 |
| Eversión parcial de párpados | 2 |
| Párpados cerrados hasta la mitad | 3 |
| Párpados cerrados de la mitad a total | 4 |
| Secreciones en pequeña cantidad | 1 |
| Secreciones con humidificación de párpados | 2 |
| Humidificación de párpados y áreas alrededor | 3 |

Fuente: OECD, 2012

Tabla 5. Clasificación de las sustancias según el índice de irritación oftálmica

| Puntuación media | Categoría |
|------------------|--------------------|
| 0 < IIO < 10 | No irritante |
| 10 < IIO < 20 | Irritante ligero |
| 20 < IIO < 30 | Irritante moderado |
| 30 < IIO < 110 | Irritante severo |

Fuente: García *et al.*, 1988

RESULTADOS

En las observaciones realizadas en los animales tratados, todos mostraron un comportamiento normal y no hubo ninguna manifestación clínica que afectara la salud de los mismos. Durante el tiempo de experimentación se evidenció la ausencia de eritema y edema en los sitios evaluados, lo que indica que no hubo alteraciones, ni daños locales en la piel asociado al contacto directo con la formulación cosmética. La tabla 6 muestra los resultados obtenidos. Estos resultados permitieron calcular un IIP, el cual alcanzó un valor igual a 0, que clasifica a la formulación como no irritante dérmico.

Tabla 6. Resultados de irritabilidad dérmica

| Modelo experimental | Σ (Eritema + Edema) / hora | | | |
|---------------------|-----------------------------------|----|----|----|
| | 1 | 24 | 48 | 72 |
| Conejo 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Conejo 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Conejo 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |

En la Tabla 7 se pueden apreciar los resultados del ensayo de irritabilidad oftálmica. Tras la aplicación de formulación cosmética no se presentaron alteraciones en la conjuntiva, iris y córnea, en ninguno de los animales expuestos. Este comportamiento se mantuvo durante las 72 horas que duró el estudio. El índice de irritación oftálmica (IIO) que se obtuvo fue igual a 0, el cual permite clasificar a la formulación evaluada como no irritante oftálmico.

Tabla 7. Resultados de irritabilidad oftálmica

| Modelo experimental | Σ (Conjuntiva + Iris + Cornea) / horas | | | |
|---------------------|---|----|----|----|
| | 1 | 24 | 48 | 72 |
| Conejo 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Conejo 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Conejo 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |

DISCUSIÓN

La piel en los organismos vivos constituye una importante puerta de entrada para muchas sustancias químicas; por tal motivo, evaluar la absorción percutánea de estos compuestos es esencial para estimar su potencial tóxico sistémico (European Commission Enterprise, 1999). Los resultados de irritabilidad dérmica obtenidos coinciden con los reportados por Cortés *et al.*, (2003), tras evaluar la irritabilidad dérmica de la crema cosmética Propoderm a base de propóleo en conejos de la raza Nueva Zelanda donde obtuvo un valor de irritación primaria (IIP) igual a 0 clasificando al cosmético como no irritante primario. En relación con la irritabilidad oftálmica los resultados coinciden con el reportado por González *et al.*, (2006) en un método *in vitro* donde una crema cosmética con propóleo se clasificó como no irritante en el modelo de ensayo utilizado.

Por otro lado, si bien no es abundante la literatura científica sobre evaluaciones toxicológicas en productos cosméticos a base de hidrolizado de sericina, los resultados concuerdan con los reportados por Correa *et al.*, (2020) en los ensayos de toxicidad dérmica y oftálmica realizados al hidrolizado de sericina como materia prima, donde se demostró que no es irritante dérmico ni oftálmico luego de ser aplicado en animales de experimentación.

CONCLUSIONES

La crema cosmética a base de hidrolizado de sericina y propóleos fue clasificada como no irritante dérmico ni oftálmico en conejos, cumpliendo con los requisitos para ser utilizada de forma corporal en posibles consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores reconocen la colaboración realizada por las especialistas Gabriela Fernández Agüero y Lorena Safonts Grenier pertenecientes a la Empresa GENIX-LABIOFAM; además resaltan la contribución de colegas del Proyecto Nacional de Sericultura y de la Empresa Apícola para la adquisición de los activos cosméticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aoki M., K., Encarnación-Dimayuga, R. & Cortés A., A.R. (2005). Evaluación toxicológica de productos naturales usando microtécnicas. *Rev. Méx. Cien. Farm*, 36(1): 11-17.
- Aramwit, P., Kanokpanont, S., Nakpheng, T., & Srichana, T. (2010). The Effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. *Int. J. Mol. Sci*, 11(5): 2200-2211.
- Asis, M. (1999). Los productos de la colmena: propóleos. Centro de Información y Documentación Agropecuaria. La Habana: [sn].
- Barajas-Gamboa, J.A., Serpa-Guerra, A.M., Restrepo-Osorio, A., & Álvarez-López, C. (2016). Aplicaciones de la sericina: una proteína globular proveniente de la seda. *Rev. Ing. Comp*, 18(2):193-206.
- Becerra-Rojas, S.A., Maldonado-Roa, E., Castro-Molina, S.L. (2022). Efecto bioconservante del propóleo y su aplicación en la conservación de matrices cárnicas. *Rev. Perspect. Nutr. Hum*, 24(1):125-135.
- Benavidez, L.E. (2017). Actividad antioxidante del extracto de propóleos y su incorporación en una formulación cosmética. *Ciencia e Investigación*, 20(2):3-8.
- Brugés, K., Reguero-Reza, M.T. (2007). Evaluación preliminar de toxicidad, genotoxicidad y actividad antimicrobiana de *Sida rhombifolia* L. *Rev. Colomb. Biotecnol*, IX (1): 5-13.
- Casado-Martí, C.M., Gutiérrez-Gaitén, Y.I. & Varona-Torres, N. (2014). Evaluación de la calidad, seguridad y capacidad antioxidante de *Murraya paniculata* L y su tintura. *Rev. Cub. Plant Med*, 19(2): 208-217.
- Chango-Apolo, D.P. (2018). Desarrollo de un gel cosmético antiacné a partir de extracto etanólico de propóleo rico en flavonoides (Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato de Ecuador).
- Correa-Rivero, H., Díaz-Casañas, E., Bernal-Veitía, O., Malvarez-Fernández, Y. (2020). Determinación de la estabilidad e irritabilidad del hidrolizado de sericina. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm*, 49(2): 9-19.
- Cortés-Rodríguez, R., Lorenzo-Montegudo, G., Pérez-Donato, A., Sosa- Martínez, R. & Sainz-Suárez, O. (2003). Irritabilidad dérmica primaria de cosméticos elaborados a partir de propóleos. *Medicentro*, 7(1): 1-5.
- De Bienestar Animal. Decreto-Ley 31/2021 de 10 de abril. Gaceta Oficial Extraordinaria de la República de Cuba, no 25, (10-4-2021).
- Dong, X., S.-X. Zhao, X.-L. Yin, H.-Y. Wang, Z.-G. Wei y Y.-Q. Zhang. (2020). Silk sericin has significantly hypoglycemic effect in type 2 diabetic mice via anti-oxidation and anti-inflammation. *Int. J. Biol. Macromol*, 150: 1061-1071.
- Draize, J.H., Woodard G., & Calvery, H.O. (1944). Methods to the study of the irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 82 (3), 377-390.
- European Commission Enterprise Directorate-General health and consumer protection. (1999). The rules governing cosmetic products in the European Union Guidelines of cosmetics products. Volume 3. Unión Europea.
- European Commission Guidance Document. (2010). National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. A working document on the development of a common education and training framework to fulfil the requirements under the Directive Disponible en: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/guidance/education_training/en.pdf.
- García-Simón, G., Palacios-Álvarez, M., Pérez-Puerta, L., García-Alea, R., Díaz-Machado, G. & Gazapo-Pernas, R. (1988). Elaboración de una metodología para evaluar la irritabilidad oftálmica. Validación con distintos métodos. *Rev Cub Farm*, 22(2), 5-24.
- González -Madariaga, Y., Castillo- Alfonso, O., Sánchez- Álvarez, C., Molina-Martínez, J.L., Pizarro-Espín, A., Silveira-Prado, E.A. (2006). Evaluación de la irritabilidad oftálmica de cremas cosméticas mediante un método in vitro en sustitución de la prueba en conejos. *Rev. electrónica REDVET*, vol. VII, núm.3, pp. 1-7

- González-Minero, F.J., Bravo-Díaz, L. (2017). Historia y actualidad de productos para la piel, cosméticos y fragancias. Especialmente los derivados de las plantas. *Rev. Ars Pharm*, 58(1): 5-12.
- ISO 10993-10:2015. Norma Cubana, Biological evaluation of medical devices. Part 10: Test for irritation and delayed -type hypersensitivity. UNE EN ISO 10993-10:2015.
- Li, Y.G., Ji, D.F., Chen, S. & Hu, G.Y. (2008). Protective effects of sericin protein. *Alcohol Alcohol*, 43(3):246-53.
- Loza-Almanza, R., Guarachi, L.N., López-Gavincha, Y., Mamani-Mamani, M., Arias-Miranda, J.L., Almanza-Vega, G. et al. (2011). Evaluación de la toxicidad de los extractos etanólicos de *Baccharis latifolia* y *Baccharis papillosa* en animales de experimentación. *Rev. BIOFARBO*, 19(1): 22 – 27.
- Mandal, B. B., & Kundu, S. C. (2009). Self-assembled silk sericin/poloxamer nanoparticles as nanocarriers of hydrophobic and hydrophilic drugs for targeted delivery. *Nanotechnology*, 20(35), 355101.
- Manual de Indicadores Sanitarios Empleados en la Evaluación de Alimentos, Cosméticos, Artículos de Aseo, Juguetes y Productos y tecnologías Ambientales (2009). Ministerio de Salud Pública, Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos, Ciudad de La Habana, 4ta Ed, 121-124.
- Márquez-Polo, D.J. (2021). Revisión de diferentes métodos de evaluación de eficacia de productos cosméticos antienvjecimiento (Tesis de pregrado, Universidad de Cartagena de Colombia).
- Masaquiza, D., Ferrán, M.O., Guamán, S., Naranjo, E., Vaca, M., Curbelo, L.M., Arenal, A. (2023). Geometric Morphometric Analysis of Wing Shape to Identify Populations of *Apis mellifera* in Camagüey, Cuba. *Insects*, 14, 306.
- Mora-Anchatuña, L.E. (2013). Formulación de un gel cosmecéutico antiané a base de extracto de flores de caléndula (*Caléndula officinalis*) y propóleo (Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo de Ecuador).
- Navarro-López, J.S.A., Lezcano, M.R., Mandri, M.N., Gili, M.A., Zamudio, M.E. (2018). Acción anticariogénica del propóleo. *Rev. RAAO*, LVIII (1):49-53.
- OECD Organization for Economic Co-operation and Development Acute skin irritation and corrosive testing. Guidelines for testing of chemicals. Test Guideline 404 (2015), Paris.
- OECD Organization for Economic Co-operation and Development Eye irritation testing. Guidelines for testing of chemicals. Test Guideline 405 (2012), Paris.
- Padilla-Camberos, E., Flores-Valdes, M.A., García-Fajardo, J.A., Urzúa-Esteva, E., Lugo-Cervantes, E., García-Carvajal, Z.Y. (2015). *Cosméticos y Cosmecéuticos en México*. *Sal Jal*. 2015;2(2):89-95.
- Peña, R.C. (2008). Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Rev. Cien. Inv. Agr*, 35(1): 17-26.
- Pérez-Capote, M.R., Rodríguez-Torres, C.C., León-Fernández, O.S., Rodríguez, S.S., Álvarez, D., Castañeda, J. & Vega J.L. (2003). Evaluación toxicológica de una tintura de propóleos. *Acta Farm. Bonaer*, 22 (1): 61-4.
- Pérez-Hernández, M.C., Martínez-Zubiaur, Y., Prieto-Abreu, M., Ruiz-Barcenas, A., González-Chirino, R.C., Correa-Rivero, H., Rodríguez-Hernández, P. et al. (2017). Sericultura: bases científicas para su desarrollo sostenible en Cuba. *Rev. Anales Acad. Cien. Cuba*, 7(1):1-9.
- Quintana-Díaz, J.C., Alonso-Rodríguez, O., Díaz-Velásquez, M., López-Milián, M. (1997). Empleo de la tintura de propóleo al 5 % en la cura de heridas sépticas faciales. *Rev. Cub. Estomatol*, 34(1):35-39.
- Repetto, M. & Repetto, G. (2009). *Toxicología fundamental*. 4th.ed. Sevilla: Díaz de Santos.
- Rodríguez-Pérez, B., Canales-Martínez, M.M., Penieres-Carrillo, J.G., Cruz-Sánchez, T.A. (2020). Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. *Rev. Acta Univ*, 30:1-30.
- Seijo-Wals, M., Meneses-Marcel, A.I., Marrero-Chang, O., Águila-Jiménez, E. & Castañedo-Hernández, Z.A. (2022). Estudios de seguridad toxicológica de la tintura hidroalcohólica de propóleos producida en el Centro de Bioactivos Químicos. 1era edición. Villa Clara: Samuel Feijóo.
- Soares Dos Reis, G., Furtado Valadão, A., Ramos Paes De Lima, L., & Lucy Moreira, M. (2009). Preparación de un protector solar y evaluación de la acción fotoprotectora del propóleo verde del

- Vale do Aço, Minas Gerais, Brasil. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 8(4), 282-288.
- Tito-Leoni, H., Amoroso, A., Aponte, P., Ross, N. & Olivero-Vila, F. (2017). Utilización de propóleos en heridas complejas. Rev. Arg. Cir. Plast, 23(2):65-71.
- Villa-Testa, A., Fuentes-Wajner, S., Medina-Blanco, Z., Ruiz- Barcenas, A., Padrón-Yaquis, S., Piloto-Ferrer, J. (2021). Hidrolizado de Sericina “SeriC”: Evaluación del potencial genotóxico en ensayos a corto plazo. Rev. Cub. Cien Biol, 9(2):1-7.

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.

ROLES DE AUTORÍA

- Odaimis Mena Alvarez:** **Autora** principal. Conceptualización, investigación, metodología, análisis formal e interpretación de los resultados, redacción del borrador original, redacción (revisión y edición).
- Yudit Rodríguez Coipel:** Redacción del borrador original, conceptualización, investigación.
- Aníbal Domínguez Odio:** Revisión crítica de la versión final y su aprobación.
- Caridad C. Rodríguez Torres:** Investigación, metodología e interpretación de los resultados.
- María R. Pérez Capote:** Investigación, metodología e interpretación de los resultados.
- Irania Guevara Orellanes:** Investigación, metodología e interpretación de los resultados.
- Mirna Fernández Cervera:** Conceptualización, investigación.