



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
Escuela de Formación Profesional de
Farmacia y Bioquímica

Tesis

**“ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA DE POMADA DERMOIMET EN RATAS
ALBINAS CEPA HOLTZMAN, SEGÚN MODELO DE IRRITACIÓN Y
TOXICIDAD AGUDA CUTÁNEA – IQUITOS 2017”**

Para optar el título de

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Autores

Bach. TULA MERCEDES CÁRDENAS CHUQUIZUTA

Bach. JORGE CHRISTIAN FERNÁNDEZ RUCOBA

Asesor Interno:

Q.F MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES

Asesores Externos:

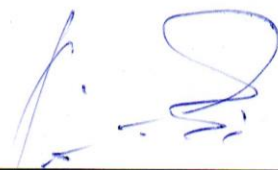
Blgo. GERMAN GONZALEZ ASPAJO

Ing. JORGE YSAAC VILLACRES VALLEJO

Iquitos – Perú

2018

JURADO CALIFICADOR



Q.F LUIS DOMINGO NONATO RAMIREZ

PRESIDENTE



Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY Dra.

MIEMBRO



Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG

MIEMBRO



Q.F MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES

ASESOR



BLGO. GERMAN GONZALES ASPAJO

CO-ASESOR



UNAP

Facultad de Farmacia y Bioquímica

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

Dirección: Carretera Zungarococha - Nina Rumi, San Juan Bautista - Maynas - Loreto - Perú

www.unapiquitos.edu.pe

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En el caserío de Nina Rumi, Distrito de San Juan Bautista, Departamento de Loreto, a los 08 días del mes de Junio del dos mil dieciocho, siendo las 10:30 horas, los Miembros del Jurado Calificador de Tesis designado según Resolución Decanal N° 234-FFB-UNAP-2017, integrados por los señores docentes que a continuación se detalla:

- Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMÍREZ, Dr. PRESIDENTE
Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra. MIEMBRO
Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG MIEMBRO



Se constituyeron en las instalaciones de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, sala de docentes; para proceder a dar inicio al Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis Titulada "ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA DE POMADA DERMOIMET EN RATAS ALBINAS CEPA HOLTZMAN, SEGÚN MODELO DE IRRITACIÓN Y TOXICIDAD AGUDA CUTÁNEA-IQUITOS 2017", presentado por los Bachilleres JORGE CHRISTIAN FERNANDEZ RUCOBA y TULA MERCEDES CÁRDENAS CHUQUIZUTA, para optar el TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO, que otorga la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA, de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto General de la UNAP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición de los sustentantes, y habiéndose formulado las preguntas respectivas, las cuales fueron respondidas: Satisfactoriamente.

Los miembros del Jurado Calificador llegaron a las siguientes conclusiones:

- 1.- La Tesis ha sido: Unanimidad.
2.- Observaciones: Ninguna



Siendo las 11:20 horas se dio por concluido el Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis, felicitándoles a los sustentantes por su

Signature of Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMIREZ, Dr. Presidente

Signature of Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra. Miembro

Signature of Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG. Miembro

DEDICATORIA

Dedico esta tesis, en primer lugar a **Dios** por haberme dado la vida y permitirme llegar hasta este punto tan importante de mi formación profesional, además de su infinita bondad y amor.

Con todo mi amor y cariño a mi amado esposo **Jorge Pinedo** por su sacrificio y esfuerzo, por creer en mi capacidad aunque hemos pasado momentos difíciles siempre ha estado brindándome su comprensión, cariño y amor.

A mi madre **Mercedes** por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional. A mi papá **Armin** quien con sus consejos, comprensión, amor y ayuda en los momentos difíciles supo guiarme para culminar mi carrera profesional

A mis hermanos **Verónica, Max, Mirian y Franco** por ser el complemento ideal de una familia unida en los buenos y malos momentos

Tula Mercedes Cárdenas Chuquizuta

DEDICATORIA

A **Dios** por haberme guiado por el camino de la felicidad y por permitirme tener la fuerza para terminar mi carrera

.

.

A mi hija **Amy Georgette** por ser la razón de mí existir, ella me da la fuerza de levantarme cada día para ser mejor persona, gracias por existir.

A mis padres **Jorge** y **Loidith** por sus esfuerzos, por darme la oportunidad de estudiar y por su constante apoyo a lo largo de mi vida.

A mis hermanos, parientes y amigos: por sus consejos, paciencia y toda la ayuda que me brindaron para concluir mis estudios

Jorge Christian Fernández Rucoba

AGRADECIMIENTO

A los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana por darme la formación para ser una profesional.

A mi asesor de tesis, por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí poder concluir una etapa de mi carrera.

Al Instituto de Medicina Tradicional – IMET por habernos permitido el uso de sus instalaciones y equipos para la ejecución del presente trabajo de investigación.

Tula Mercedes Cárdenas Chuquizuta

A mi compañera de tesis porque en esta armonía grupal lo hemos logrado y a mi asesor de tesis quien nos ayudó en todo momento, Q.F. Mario Javier De La Cruz Flores.

Jorge Christian Fernández Rucoba

INDICE DEL CONTENIDO

	Contenidos	Pág.
	Portada	1
	Dedicatoria	4
	Agradecimiento	5
	Índice	6
	Índice de tablas	10
	Índice de figuras	11
	Índice de anexos	12
	Lista de siglas y abreviaturas	13
	Resumen	14
	Abstract	15
	CAPITULO I	
1.1	Introducción	16
1.2	Objetivos	17
1.2.1	Objetivo General	17
1.2.2	Objetivos Específicos	17
	CAPITULO II	
2.1	Marco Teórico	18
2.1.1	Antecedentes	18
2.1.2	Marco conceptual	20
2.1.3	Estructura de la piel.	20
2.1.3.1	Epidermis	20
2.1.3.2	Dermis	21
2.1.3.3	Hipodermis	21
2.2	Pomadas	22
2.2.1	Componentes activos	22
2.2.2	Excipientes	23
2.2.3	Cera de Abeja	24
2.3	Bases de la terapéutica farmacológica en dermatología.	25
2.3.1	Factores que influyen en la absorción de sustancias por la piel.	26

2.3.1.1	Características de los xenobióticos	26
2.3.1.2	Factores ambientales	26
2.3.1.3	Características anatómo fisiológicas	26
2.4	Toxicidad Aguda	27
2.4.1	Irritación Cutánea	27
2.4.2	Eritema	28
2.4.3	Edema	28
2.4.4	Derecho de los animales	28
2.5	Hipótesis	29
2.5.1	Variables	30
2.5.2	Variable Dependiente	30
2.5.3	Variables Independientes	30
2.5.4	Índice de irritación primaria	31
2.5.5	Operacionalización de variables	32
	CAPITULO III	
3.1	Metodología	35
3.1.1	Tipo de estudio	35
3.1.1.1	Diseño de la Investigación	35
3.1.1.2	Población y Muestra	35
3.1.1.3	Población Animal	35
3.1.1.4	Muestra Animal	35
3.2	Criterios de Inclusión	35
3.3	Criterios de Exclusión	36
3.4	Procedimiento Experimental	36
3.4.1	Aclimatación y cuarentena	36
3.4.2	Selección	36
3.4.3	Preparación de los animales	36
3.4.4	Prueba de Irritación Aguda Cutánea	36
3.4.5	Prueba de Toxicidad Aguda Cutánea	37
3.4.6	Selección y agrupación de los animales	37
3.4.7	Preparación del animal	37
3.4.8	Aplicación de la pomada DERMOIMET y los controles	37

3.4.9	Registro del peso corporal (gramo)	38
3.4.10	Obtención del índice de irritación primaria	38
3.4.11	Observación microscópica (histopatología)	38
3.5	Materiales, Equipos y Reactivos	39
3.5.1	Materiales	39
3.5.1.1	Material vegetal	39
3.5.1.2	Material biológico y otros	39
3.5.1.3	Material de laboratorio	39
3.5.1.4	Material de escritorio	39
3.5.2	Equipo	39
3.5.3	Reactivos, insumos y drogas	39
3.6	Instrumentos de recolección de datos.	39
3.6.1	Tarjeta de registro de farmacología	39
3.6.1.2	Procedimiento de recolección de datos	39
3.6.1.3	Consideraciones éticas.	40
	CAPITULO IV	
4.1	Resultados	41
4.2	Discusión	52
4.3	Conclusiones	54
4.4	Recomendaciones	55
4.5	Referencias Bibliográficas	56
4.6	Anexos	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Características comparativas de semillas oleaginosas (Valores aproximados).	23
Tabla 2.	Índice de irritación primaria.	31
Tabla 3.	Descriptivos de los grupos de estudio: Irritación Aguda Cutánea.	41
Tabla 4.	Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio: Irritación Aguda Cutánea	41
Tabla 5.	Prueba de homogeneidad de varianzas: Irritación Aguda Cutánea.	42
Tabla 6.	Análisis de varianza de los grupos de estudio: Irritación Aguda Cutánea.	42
Tabla 7.	Comparaciones múltiples entre los grupos: Irritación Aguda Cutánea.	43
Tabla 8.	Descriptivos de los grupos de estudio: Toxicidad Aguda Cutánea.	44
Tabla 9.	Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio: Toxicidad Aguda Cutánea.	44
Tabla 10.	Prueba de homogeneidad de varianzas: Toxicidad Aguda Cutánea.	45
Tabla 11.	Análisis de varianza de los grupos de estudio: Toxicidad Aguda Cutánea.	45
Tabla 12.	Comparaciones múltiples entre los grupos: Toxicidad Aguda Cutánea	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Histología Dérmica.	20
Figura 2.	Observación de irritación aguda cutánea.	47
Figura 3.	Anatomía microscópica de piel dorsal de ratas Winstar.40x	47
Figura 4.	Grupo experimental - sin tratamiento (control negativo).	48
Figura 5.	Grupo experimental - crema base.	48
Figura 6.	Grupo experimental -Procicar (control positivo).	49
Figura 7.	Grupo experimental - DERMOIMET (muestra problema).	49
Figura 8.	Grupo experimental - Sin tratamiento (control negativo).	50
Figura 9.	Grupo experimental - CREMA BASE	50
Figura 10.	Grupo experimental - Procicar (Control positivo).	51
Figura 11.	Grupo experimental - DERMOIMET (Muestra problema).	51

LISTA DE ANEXOS

Anexo1.	Flujograma: Evaluación del efecto toxicológico de la pomada Dermoimet.	60
Anexo 2.	Constancia del Comité Institucional de ética para el uso de animales en investigación del Instituto Nacional de Salud.	61
Anexo 3.	Protocolo de Análisis Límite microbiano.	62
Anexo 4.	Protocolo de Análisis Organoléptico y Físicoquímicos.	63
Anexo 5.	Especificaciones para preparaciones farmacéuticas de uso cutáneo.	64
Anexo 6.	Escala de evaluación del potencial irritante según Test de Draize	65
Anexo 7.	Tarjeta de registro de farmacología.	66

SIGLAS Y ABREVIATURAS

cm:	centímetro
FFB:	Facultad de farmacia y bioquímica
IIP:	Índice de irritación primaria
IMET:	Instituto de Medicina Tradicional
mm:	milímetro
mL:	mililitro
OCDE:	Organización de cooperación para el desarrollo económico

ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA DE POMADA DERMOIMET EN RATAS ALBINAS CEPA HOLTZMAN, SEGÚN MODELO DE IRRITACIÓN Y TOXICIDAD AGUDA CUTÁNEA

RESUMEN

Se determinó la actividad toxicológica de pomada "Dermoimet" *in vivo*, mediante el test de Draize en ratas albinas cepa Holtzman con un peso de 200 a 250 gr. Se tuvo dos grupos experimentales, uno para determinar el potencial de irritación aguda cutánea (OECD 404) al cual se le aplicó la pomada *Dermoimet*, sobre la piel, con una única administración, se observó a las 24h, 48h y 72h. Para determinar el potencial de Toxicidad aguda cutánea (OECD 427) se administró por vía tópica la pomada *Dermoimet* por única vez y se observó la zona tratada durante 14 días consecutivos; como control positivo se usó la crema Procicar (Óxido de zinc, calamina), al grupo control negativo no se le administró ningún tratamiento, al grupo placebo se le aplicó crema base (cera de abeja) y al grupo muestra problema la pomada *Dermoimet*. Durante la evaluación se clasificaron y analizaron las diferentes lesiones dérmicas mediante el uso de la escala del Test de Draize durante 1, 2 y 3 días; y durante 14 días respectivamente. En el término de cada prueba las ratas fueron sacrificados por dislocación cervical para el estudio histopatológico a las muestras de piel recolectadas. En el examen macroscópico luego de aplicar la pomada *Dermoimet* no se evidenció signos ni síntomas de irritación y toxicidad aguda cutánea (OECD 404 y OECD 427 respectivamente). Se obtuvo un índice 0,20 de irritación primaria y de 0,05 para toxicidad aguda cutánea, considerándose ambos resultados como insignificante, y por ende los mismos se encuentran dentro de los límites permitidos para este tipo de estudio. Al examen microscópico la histopatología reveló en todas las ratas tratadas con la pomada *Dermoimet* una leve hiperqueratosis.

Palabras claves: Pomada, test de Draize, índice de irritación primaria, toxicidad aguda.

TOXICOLOGICAL ACTIVITY OF POMADA DERMOIMET IN ALPINE RATS
CEPA HOLTZMAN, ACCORDING TO MODEL OF IRRITATION AND
CUTANEOUS ACUTE TOXICITY

Abstract

The toxicological activity of "Dermoimet" ointment was determined in vivo by the Draize test in albino rats Holtzman strain with a weight of 200 to 250 gr. There were two experimental groups, one to determine the potential of acute skin irritation (OECD 404), where the Dermoimet ointment was applied on the skin, with a single administration, and was observed at 24h, 48h and 72h. Then, to determine the potential of acute cutaneous toxicity (OECD 427), the Dermoimet ointment was administered topically only once and the treated area was observed for 14 consecutive days; as a positive control the cream was used. Procicar (zinc oxide, calamine), no treatment was administered to the negative control group, however, the placebo group was applied base cream (beeswax) and the group sample problem, Dermoimet ointment. During the evaluation, the different skin lesions were classified and analyzed by using the Draize Test scale for 1, 2 and 3 days; and for 14 days, respectively. At the end of each test, the rats were sacrificed by cervical dislocation, for the histopathological study of the skin samples collected. In the macroscopic examination after applying the Dermoimet ointment, there were no signs or symptoms of irritation and acute skin toxicity (OECD 404 and OECD 427 respectively). A 0.20 index of primary irritation and 0.05 for acute skin toxicity were obtained, both results are considered insignificant, and therefore they are within the limits allowed for this type of study. At microscopic examination histopathology revealed mild hyperkeratosis in all rats treated with the Dermoimet ointment.

Key words: Ointment, Draize test, primary irritation index, acute toxicity.

CAPITULO I

1.1 INTRODUCCION

En la actualidad, más del 90% de formulaciones/remedios contienen plantas medicinales, donde hay sustancias que cuando se aplican en la piel pueden causar irritabilidad o sensibilidad en el área aplicada. La piel es uno de órganos más importantes de los seres vivos y tiende a protegernos contra agentes externos que podrían provocarnos enfermedades y cuyo tratamiento puede ser muy difícil y costoso ⁽¹⁾.

Se desarrollaron modelos predictivos sobre las características fisicoquímicas de nuevas sustancias a fin de detectar si pueden ser irritantes para los seres humanos, así como para el medio ambiente ⁽²⁾.

La intolerancia a las pomadas genera estudios en el ambiente dermocosmético. Entendiéndose ésta a la irritabilidad del organismo para cierto grupos de medicamentos, alimentos y sustancias expandidas en el medio ambiente ⁽³⁾ ya que cada año, los centros de toxicología en los Estados Unidos y Canadá reportan más de 45000 causas de exposición a productos farmacéuticos de uso tópico ⁽⁴⁾.

En la evaluación de las características tóxicas de una sustancia, la determinación de la toxicidad dérmica aguda es útil cuando es probable la exposición por vía dérmica; proporciona información sobre los peligros para la salud que pueden derivarse de una exposición a corto plazo por vía dérmica ⁽⁵⁾. También es preciso señalar, la exposición a muchos productos químicos se produce principalmente a través de la piel, mientras que la mayoría de los estudios toxicológicos realizados en animales de laboratorio utilizan la vía oral de administración ⁽⁶⁾.

Es por ello que el presente trabajo de investigación, planteó como objetivo evaluar el efecto toxicológico de pomada DERMOIMET en ratas albinas cepa Holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

Evaluar el efecto toxicológico de pomada DERMOIMET en ratas albinas cepa Holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Calcular el índice de irritación aguda cutánea de la pomada DERMOIMET en la piel de ratas albinas cepa Holtzman, según OCDE 404.
- b) Calcular el índice de toxicidad aguda cutánea de la pomada DERMOIMET en la piel de ratas albinas cepa Holtzman, según OCDE 427.
- c) Determinar a partir de cortes histológicos de la piel de las ratas albinas, tratadas con la pomada DERMOIMET, si existe alguna alteración en la estructura de la dermis y epidermis.

CAPITULO II

2.1 MARCO TEORICO

2.1.1 ANTECEDENTES

Cooke A. et al. (2016), compararon el efecto hidratante del aceite de girasol sobre piel reseca en bebés y el efecto del aceite de hígado de bacalao como un potenciador de la absorción de la piel en personas con antecedentes familiares de eccema atópico. El ensayo controlado aleatorizado (aprobado por el Comité de Ética de Investigación del Gran Manchester Este (13 / NW / 0512) ⁽⁷⁾.

López M. et al. (2014), determinaron la toxicidad aguda tóxica y la irritabilidad dérmica primaria de la decocción al 50% de hojas recién colectadas de *Piper auritum*, utilizaron las técnicas descritas en las guías de la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD), para la toxicidad dérmica en ratas Wistar la técnica OECD 434 y para la irritabilidad tóxica en conejos cepa Nueva Zelanda la OECD 404. Reportaron que no apreciaron signos ni síntomas de toxicidad por la absorción dérmica en las ratas ni observaron evidencia de edema ni eritema en los conejos empleados ⁽⁸⁾.

Albuquerque P. et al. (2014), determinaron la actividad antimicrobiana, citotóxica y cicatrizante del extracto etanólico del tallo de *Zeyheria tuberculosa*, por vía tóxica y/o ingestión oral. Los ensayos antimicrobianos *in vitro* mostraron actividad frente a la *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, con halos de inhibición de 18, 14 y 10 mm respectivamente. Concluyeron que era conveniente continuar con estudios de identificación de los principios activos responsables por la actividad farmacológica y del mecanismo de cicatrización de heridas. Esta doble acción podría ser utilizada para elaborar una formulación alternativa para tratar heridas cutáneas infectadas ⁽⁹⁾.

Kuch M. et al (2014), determinaron el potencial irritante del aceite esencial de *Aniba rosaeodora* Ducke “palo de rosa” en *Orytolagus cuniculus* cepa New

zealand sexo machos, mediante la escala del Test de Draize. Los resultados a nivel macroscópico no mostraron evidencia del potencial irritante al obtener un índice de irritación primaria de 0,21, valor que estaba dentro de los límites permitidos por lo que consideraron este resultado como insignificante ⁽¹⁰⁾.

Mosquera T. et al. (2012), evaluaron la clínica dermatológica de formulaciones de cremas de aplicación cosmética y emulsiones básicas a base de los aceites de *Mauritua flexuosa* (morete), *Plukenetia volubilis* (sacha inchi) y *Oenocarpus bataua* (ungurahua). El estudio *in vivo* no invasivo, tuvo como participantes a 30 mujeres en quienes se determinó cierto grado de foto envejecimiento, con ayuda de un instrumental el Cutometer MPA580. El equipo les permitió visualizar las modificaciones en la elasticidad y firmeza cutánea a los 28 días de tratamiento. Concluyeron que las cremas mejoran de forma significativa la luminosidad y suavidad de la piel y la evaluación instrumental dio información de una mejoría en la firmeza y elasticidad de la piel ⁽¹¹⁾.

Velázquez B. et al. (2010), llevaron a cabo la caracterización toxicológica en tinturas de cortezas de *Eucalyptus citriodora* Hook. y *Eucalyptus saligna* al 20 y 83 % respectivamente. Los animales en ensayos de toxicidad dérmica aguda, no mostraron signos clínicos que evidenciaran un proceso tóxico. Concluyeron que las tinturas pueden aplicarse en piel intacta y piel dañada sin provocar cambios desfavorables ⁽¹²⁾.

García C. et al. (1997), llevaron a cabo el estudio toxicológico de un producto natural derivado de la caña de azúcar. De los resultados obtenidos en la evaluación preclínica de un principio activo formulado en crema con propiedades cicatrizantes y antifúngicas, determinaron su inocuidad en animales de experimentación mediante la estimación de la dosis letal media en conejos F1 y ratas albinas cepa Wistar, utilizando niveles de dosis elevados. También estudiaron el potencial irritante sobre la piel, mucosa ocular, vaginal y rectal, así como su potencial como agente sensibilizante, en donde no evidenciaron mortalidad y se comprobó la ausencia de efectos irritantes sobre la piel y mucosas evaluadas ⁽¹³⁾.

2.1.2 MARCO CONCEPTUAL

2.1.3 Estructura de la piel

La piel es el órgano más extenso y representa aproximadamente la sexta parte del peso corporal⁽¹⁴⁾. Delimita el cuerpo formando una superficie continua y en sus discontinuidades da paso a los orificios naturales del cuerpo revestidos de mucosas⁽¹⁴⁾. La integridad de la piel constituye una barrera protectora mecánica, química y biológica⁽¹⁴⁾. La piel relaciona al organismo con el medio externo permitiendo detectar sensaciones de bienestar, de dolor, de presión y temperatura.

La piel está constituida por tres capas de tejido, de génesis embriológica totalmente distinto⁽¹⁴⁾: la epidermis, la dermis o corion y el tejido subcutáneo o también denominado hipodermis o subcutis.

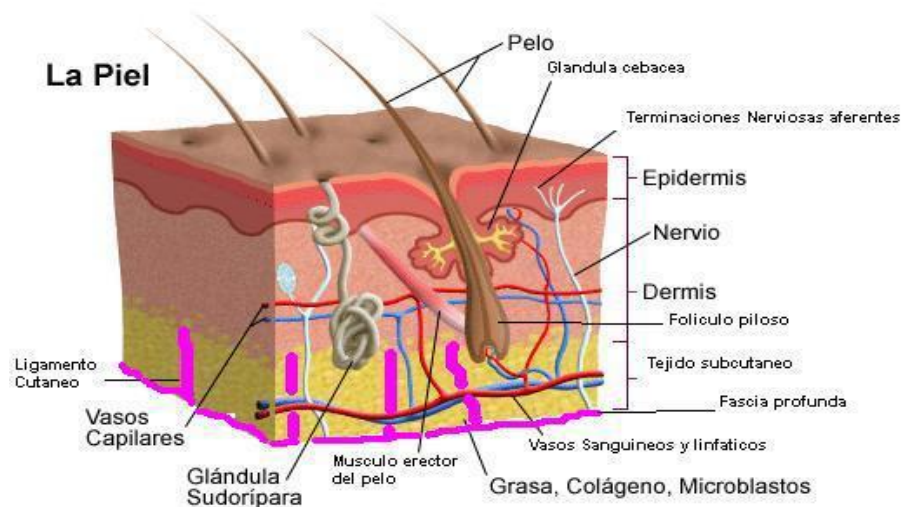


Figura 1. Histología Dérmica

(<http://www.biopsicosalud.com.ve/2017/05/la-piel-como-mecanorreceptora.html>)

2.1.3.1 La epidermis: Cobertura externa visible, es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado. Es la capa de la piel con mayor número de células y con una dinámica de recambio extraordinariamente grande. Tiene una profundidad en promedio de 0,1 mm., pero en las zonas de mayor

contacto como las zonas plantares y palmares su espesor es de hasta 1 ó 2 mm⁽¹⁴⁾.

Está constituida por cuatro capas: capa córnea (*stratum corneum*), capa granular (*stratum granulosum*), capa de células espinosas (*stratum spinosum*) y capa basal (*stratum basale*). Pero en las zonas de mayor espesor presenta una quinta capa llamada capa lúcida (*stratum lucidum*) ubicada entre la capa córnea y la granular.

2.1.3.2 La dermis: da soporte estructural a la piel y le proporciona resistencia y elasticidad. La matriz extracelular contiene una elevada proporción de fibras, no muy compactadas, de colágeno (>75%), elastina y reticulina. Es el estrato de mayor espesor (5 mm) que da soporte y suministra alimento a la epidermis y se divide en dos capas, que desde el exterior al interior son: la capa papilar (*stratum papillare*) y la capa reticular (*stratum reticulare*).

La capa papilar: que presenta proyecciones hacia la epidermis, llamadas papilas dérmicas y se alternan con los procesos interpapilares de la epidermis. Esta capa está vascularizada (asas capilares) y es la fuente de nutrientes de la epidermis. También presenta las diferentes terminaciones nerviosas, los receptores sensoriales y red linfática.

La capa reticular: es de mayor espesor que la capa anterior, es una maya de haces de fibras colágenas que se entrecruzan con haces de fibras elásticas. Esta estructura es la que proporciona elasticidad y capacidad de adaptación a movimientos y cambios de volumen⁽¹⁴⁾.

2.1.3.3 La Hipodermis. Es una capa de células grasas o adipocito, también contiene vasos sanguíneos y nervios. Esta capa rica en grasas triesterificadas amortigua los golpes, aísla del frío y es una reserva de energía⁽¹⁴⁾. En esta capa por acción de los rayos ultra violeta se sintetiza la vitamina D⁽¹⁵⁾.

La vía de administración tópica cutánea permite la aplicación de principios activos a nivel local, los mismos que se presentan bajo ciertas formulaciones con características propias. El porcentaje de absorción, de las diferentes

formulaciones que contienen la misma concentración de componente activo en orden decreciente es como la siguiente: ungüento > pomada > crema > gel > loción > polvo.

2.2 Pomadas

Son preparados sencillos muy heterogéneos de consistencia semisólida de acción local, se aplican sobre piel o mucosas y penetran hasta tejido cutáneo. Constan de una base sencilla o compuesta, en cuyo seno se disuelven o se dispersan los componentes activos ⁽¹⁶⁾.

Al igual que los ungüentos son formulaciones grasas oclusivas, preservan de la deshidratación. Estas formulaciones, se recomiendan en lesiones crónicas secas costrosas y con grietas.

Presentación: Para envasar las pomadas se prefiere en frascos plastificados o de aluminio recubierto interiormente por película plástica. Este es el envase ideal que evita en mayor grado la contaminación, alteración y evaporación en los preparados fuertemente hidratados ⁽¹⁷⁾. Deben conservarse en recipientes cerrados y en lo posible a temperatura constante. Variaciones en la temperatura pueden conducir a microcristalizaciones del principio activo y modificaciones en el excipiente.

2.2.1 Componentes activos

Es el componente que ostenta la actividad farmacológica en una forma farmacéutica, preparado o recurso terapéutico. Esto quiere decir que el componente activo de un fármaco es aquel que permite prevenir, tratar o curar una enfermedad u otro tipo de trastorno de salud. Sin embargo los componentes activos pueden provocar diversos efectos secundarios en el organismo o por interacción con otra sustancia química administrada de forma conjunta puede evidenciarse efectos secundarios o reacciones adversas al medicamento ⁽¹⁸⁾.

Lo mismo pasa con el cosmético, se espera que evidencie la función del componente activo para la que ha sido diseñado y fabricado el cosmético, por ejemplo: En el caso de un maquillaje, los colorantes encargados de dar color a la piel sobre la que se aplica son el principio activo o componente activo.

Tabla 1. Características comparativas de semillas oleaginosas (Valores aproximados).

Nutrientes	Sacha inchi	Oliva	Soya	Lino	Canola	Maní	Girasol	Algodón	Palma
Proteínas	33,00	1,60	28,00	26,00	21,00	23,00	24,00	32,00	0,00
Aceite Total	54,00	22,00	19,00	35,00	49,00	45,00	48,00	16,00	0,00
Palmítico saturado	3,85	13,00	10,70	6,30	4,00	12,00	7,50	18,00	45,00
Esteárico saturado	2,54	3,00	3,30	2,50	2,00	2,20	5,30	3,00	4,00
Total de saturados	6,00	16,00	14,00	8,80	6,00	14,00	13,00	21,00	49,00
Oleico monoinsaturado	8,28	71,00	22,30	19,00	56,00	43,30	29,30	18,70	40,00
Linoleico omega 6	36,80	10,00	54,50	14,00	15,00	36,80	57,90	57,50	10,00
Linoleico omega 3	48,60	1,00	8,30	58,00	10,00	0,00	0,00	0,50	0,00
Ácidos grasos esenciales	84,86	11,00	62,80	0,00	48,55	36,00	57,90	58,00	10,00
Total de insaturados	93,60	83,00	85,10	91,00	92,60	80,10	87,72	56,70	50,00

Fuente: Agroindustrias Amazónicas (AA); Universidad Nacional Agrarias La Molina (Unalm)

Elaboración propia

2.2.2 Excipientes

Sustancias que, a las concentraciones presentes en una forma farmacéutica, carecen de actividad farmacológica; ello no excluye la posibilidad de que determinados excipientes pueden causar reacciones alérgicas o efectos indeseables. Se emplean con el fin de dotar a la forma farmacéutica de características que aseguren la estabilidad, biodisponibilidad, aceptabilidad y facilidad de administración de uno o más principios activos. Ejemplos: Tipos de

excipientes: desintegrantes, emulsificantes (emulsionantes), colorantes, saborizantes, aglutinantes, preservantes, espesantes y otros ⁽²³⁾.

Las Funciones de los excipientes ⁽²³⁾:

- Servir de soporte al principio activo.
- Influir en la penetración del principio activo hacia la dermis, contribuyendo así a la eficacia del preparado.
- En pomadas protectoras puede influir en la capacidad de protección final frente a diversos agentes externos.
- Si no contiene principio activo puede utilizarse como protector.
- Mantener las características físicas y químicas de la piel normal (grado de humedad, pH), para mejorar sus mecanismos de defensa.

2.2.3 Cera de Abeja

La cera de abeja es un producto segregado por las abejas de entre 12 y 30 días de edad (puntualmente de otras edades en ausencia de estas) en forma de pequeñas escamas redondeadas, en 4 pares de glándulas ubicadas en la parte inferior de los 4 últimos anillos del abdomen. La cera forma parte de las colmenas, y se ha utilizado tradicionalmente: para fabricar velas, recubrimiento impermeabilizante, esculturas y similares; como espesante y vehículo de administración de cosméticos y colores; y de remedios grasos en la farmacopea tradicional, “ceratos” ⁽²⁴⁾.

Los ceratos han sido desplazados en gran medida por compuestos de síntesis industrial, a veces por sus mejores cualidades y a veces por sus mejores precios. Sin embargo sigue teniendo otros usos, aparte del apícola, siendo los principales ⁽²⁴⁾:

- **Cosmético y Farmacéutico:** en la composición de pomadas y cremas, como base grasa y como espesante. En este caso suele utilizarse cera de opérculos, de la mejor calidad, para evitar problemas de residuos y de alergias. El uso mayoritario en este campo es la cera de depilar, que es una mezcla de cera de abejas con resinas.

- **Impermeabilización y protección:** para recubrir cordones de costura en zapatería, cartonajes..., incluso en algunas culturas la carne seca (tipo mojama). En la fabricación de betunes y cremas de zapatos. Para revestir recipientes a fin de prevenirlos del ataque de los ácidos de los zumos de frutas y de otros agentes corrosivos. Para encapsular componentes eléctricos y electrónicos.
- **Joyería y modelado de escultura:** para realizar modelos de piezas, por su maleabilidad, que luego se transforman en pieza única si se forra de un material resistente (arcilla u otros) y luego se vierte un metal fundido (técnica de la “cera perdida”) o sirve para fabricar cualquier otro molde.
- **Otros:** en la preparación de tejidos pintados, “batik”; de barnices y pulimentos; en grabados de imprenta, placas de metal y otros.

2.3 Bases de la terapéutica farmacológica en dermatología

Muchas dermatosis no necesariamente requieren un tratamiento por vía sistémica, bien pueden ser tratadas de forma tópica, de esta manera se evita los posibles efectos adversos.

A pesar de la gran gama de medicamentos que se expenden en el mercado, para el tratamiento de patologías cutáneas hay un grupo de dermatólogos que prescriben fórmulas magistrales que cumplen con el fin para el cual se les formuló.

Las formulaciones magistrales al igual que una especialidad farmacéutica están constituidas por dos componentes: el componente activo y los excipientes. Ambos de igual importancia al momento de formular. Por lo general, el excipiente se escoge en función del grado de humedad e inflamación de la lesión, mientras que la patología determina el componente activo ⁽²⁵⁾, es decir busca acercarse a dar un tratamiento individualizado.

2.3.1 Determinantes que influyen en la absorción de sustancias por la vía tópica

En el proceso de absorción intervienen las características del xenobiótico, factores ambientales y las características anatómo-fisiológicas del paciente.

2.3.1.1 Características de los xenobióticos: Los compuestos donde predomina la cadena hidrocarbonada son los que mejor se absorben, por ser liposolubles, estas sustancias atraviesan la piel. Y su acción está determinada por los grupos funcionales que tenga, los cuales le dan la capacidad de solvatare y de interactuar con las moléculas biológicas a fin de determinar acciones, efectos y la respuesta terapéutica esperada.

2.3.1.2 Factores ambientales: La piel tiene un pH que oscila entre 4,7 y 5,75 y muchas sustancias de uso rutinario como los detergentes son capaces de alterar la piel provocando un aumento de su permeabilidad a las sustancias químicas. Los ácidos y las bases pueden dar lugar a una desnaturalización y destrucción de los componentes de la piel provocando un aumento de la absorción por la vía tópica.

Por otro lado, los disolventes orgánicos, disuelven los lípidos de las membranas celulares de la piel y permite un aumento de su permeabilidad. La cantidad de sustancia absorbida depende del área afectada, el tiempo de contacto de la piel con el químico y la concentración del mismo.

Otros factores ambientales como son el incremento de la temperatura y/o la humedad del ambiente, producen un incremento en la cantidad de sustancia absorbida a través de la piel ⁽²⁵⁾.

2.3.1.3 Características anatómo-fisiológicas: Las características anatómicas de la piel como es el grado de hidratación de la piel, la misma que puede verse afectada por la frecuencia de lavados, por el uso de ropas cerradas o sintéticas, entre otros condicionantes.

También afecta la absorción el incremento de la temperatura de la piel que depende del medio interno, que puede determinar una pérdida de humedad de la piel. Así también las afecciones que se presentan en la piel como la psoriasis, ictiosis, eczemas, dermatitis seborreica entre otras. De otro lado las quemaduras, excoriaciones, irritaciones lesionan la piel y alteran su permeabilidad.

La absorción a nivel de la piel varía según sea la localización topográfica de la misma. Se ha descrito en la literatura médica que la absorción tópica en forma descendente es en primer lugar para el escroto, seguido de la frente, cuero cabelludo, abdomen, parte anterior del hombro, espalda, cara anterior del antebrazo, palma de las manos y planta de los pies ⁽²⁵⁾.

2.4 Toxicidad aguda

Es determinada por la exposición única o múltiple de la piel a un determinado xenobiótico, en el lapso de 24 horas, tiempo después del cual se determinan los efectos adversos que presenta la zona en prueba ⁽²⁶⁾.

2.4.1 Irritación cutánea

Es la respuesta inflamatoria del tejido cutáneo (dermis) a la injuria de la piel provocada por factores endógenos (enzimas prostaglandinas y componentes del sistema inmunológico) o exógenos (climáticos, químicos o biológicos). Esta se caracteriza por inflamación, enrojecimiento o dolor ⁽²⁶⁾.

El tejido lesionado por la injuria libera una cantidad de mediadores celulares como son histamina, bradicinina, serotonina entre otros. El agrandamiento de las fenestras que favorece la presencia de infiltrados a la zona injuriada, que determinan un edema extracelular local. La coagulación de los exudados tisulares deriva en un edema duro. Posteriormente los macrófagos y neutrófilos realizan la acción proteolítica con enzimas como la elastasa y permiten la recuperación con la consiguiente eliminación de las sustancias químicas.

La reacción inflamatoria cutánea presenta una fase aguda caracterizada por la presencia de lesiones eritematosas y edematosas muy pruriginosas sobre las que paulatinamente van apareciendo vesículas que se rompen fácilmente y dejan costras. Luego en la fase subaguda el componente vesícula exudativo declina y da inicio a la descamación. Posteriormente en la fase crónica el componente vesicular ya no está presente y predomina la descamación y la liquenificación.

2.4.2 Eritema

Es una lesión dermatológica común localizada, caracterizada por el enrojecimiento de la piel de diferente intensidad y que al examen clínico desaparece cuando se aplica presión sobre él. En ocasiones puede ser un síntoma de un proceso infeccioso, una respuesta alérgica a un xenobiotico, una urticaria por sustancias irritantes entre otras causas ⁽²⁶⁾.

2.4.3 Edema

Es la respuesta a un proceso inflamatorio, produciendo acumulo excesivo de líquido seroso en el espacio intercelular de los tejidos.

2.4.4 Derechos de los animales

Los animales usados en experimentación están protegidos por la Constitución y la legislación peruana (Ley 30407), un conjunto de principios referentes a los animales deben ser respetados, porque el Estado garantiza la vida y el bienestar de los animales ⁽²⁷⁾.

El capítulo V que legisla sobre la tenencia protección y manejo de animales, en su artículo 19 refiere que, la experimentación e investigación en animales solo puede darse en centros de educación superior y centros especializados públicos y privados. Los investigadores deben buscar el bienestar de los

animales en los actos de experimentación, investigación y docencia teniendo cuidado de buenas prácticas de manejo, bioseguridad y bioética.

La declaración universal de los derechos del animal (23 de septiembre de 1977) en su artículo 8 refiere que el sufrimiento físico o psicológico del animal, atentan contra los derechos del animal, por lo que se deben buscar técnicas alternativas *in vitro* que **reemplacen** el uso de animales. Por otro lado el investigador debe **reducir** el número de animales y **refinar** las técnicas a fin de disminuir el sufrimiento de los animales. Es decir debe tenerse en cuenta el principio de las 3 "R" ⁽²⁸⁾.

2.5 HIPÓTESIS

Ho: La pomada DERMOIMET tiene actividad toxicológica significativa en ratas albinas cepa Holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea.

Ha: La pomada DERMOIMET tiene actividad toxicológica insignificante en ratas albinas cepa Holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea.

2.5.1 VARIABLES

2.5.2 Variable dependiente

Escala de irritación y toxicidad en la piel de ratas.

Indicador: Formación de eritema y edema – Método visual – Test de Irritabilidad dérmica.

Formación de eritema:

Respuesta Valor

- No eritema 0
- Eritema ligero (apenas perceptible)..... 1
- Eritema bien definido..... 2
- Eritema severo a moderado3
- Eritema severo (rojo remolacha) ligera formación de escara (daño profundo)4

Formación de edema:

Respuesta Valor

- No edema..... 0
- Edema muy ligero (apenas perceptible)..... 1
- Edema ligero (bordes del área bien definidos por una pápula..... 2
- Edema moderado (Pápula de 1mm aprox. 3
- Edema severo (pápula más de 1 mm pasando el área de exposición).....4

2.5.3 Variable independiente

Pomada DERMOIMET.

Indicador:

- Tiempo de duración de pomada DERMOIMET.
- Tiempo de exposición a la sustancia a 24, 48 y 72horas.

Tabla 2 . Índice de irritación primaria

Categoría de la reacción	Puntuación Promedio	Criterios de aceptación
Insignificante	de 0,00 a 0,49	Se aprueba
Leve	de 0,50 a 1,99	(No irritante)
Moderada	de 2,00 a 4,99	Se rechaza
Grave	de 5,00 a 8,00	(Irritante)

2.5.5 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Escala de irritación en la piel de ratas.	Formación de una lesión reversible de la piel como consecuencia de la aplicación de la pomada DERMOMET durante un periodo de 24, 48, 72 horas.	Se evaluaron las lesiones dérmicas producidas por la exposición de la pomada, según la escala del Test de Draize.	Índice de Irritación Primaria Insignificante: 0,0 a 0,4 Leve : 0,5 a 1,9 Moderada : 2,0 a 4,9 Grave : 5,0 a 8,0	- No Irritante: 0,0 a 1,9 - Irritante: 2,0 a 8,0	Nominal Tipo: Cuantitativo

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Pomada DERMOMET	Observación de lesiones en la piel como consecuencia de la aplicación de la pomada DERMOMET durante un periodo de 24, 48, 72 horas y 14 días consecutivos.	Se examinó las lesiones cutáneas producidas por la exposición de la pomada. Según la escala de graduación de irritaciones cutáneas.	FORMACION DE ERITEMA: <u>Respuesta Valor</u> No eritema 0 Eritema ligero (apenas perceptible)..... 1 Eritema bien definido..... 2 Eritema severo a moderado3 Eritema severo (rojo remolacha) ligera formación de escara (daño profundo)4 FORMACION DE EDEMA: <u>Respuesta Valor</u> No edema..... 0 Edema muy ligero (apenas perceptible)..... 1 Edema ligero (bordes del área bien definidos por una pápula)..... 2 Edema moderado (Pápula de 1mm aprox.)..... 3 Edema severo (pápula más de 1 mm pasando el área de exposición) 4	Ausencia de Eritema: 0 Presencia de Eritema: 1 - 4 Ausencia de Eritema: 0 Presencia de Eritema: 1 - 4	Nominal Tipo: Cuantitativo Nominal Tipo: Cuantitativo

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Toxicidad en piel de ratas	Preparado farmacéutico muy heterogéneo, caracterizado por su consistencia semisólida, destinada a ser aplicada sobre la piel con el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración cutánea de sus principios activos.	Aplicación de 1g de la pomada en un área de 2,5 x 2,5 cm durante 24 horas y se procederá al lavado de la zona con abundante agua estéril.	Tiempo de exposición a la pomada: 24 horas 48 horas 72 horas 14 días consecutivos	<ul style="list-style-type: none"> - Irritante - No irritante 	Nominal Tipo: Cualitativo

CAPÍTULO III

3.1 METODOLOGÍA

3.1.1 Tipo de estudio

Correlacional: porque se realizó comparaciones de la variable dependiente entre los grupos experimentales y del control.

Prospectivo: porque en el registro de la información se tomaron en cuenta todos los hechos a partir de la fecha de estudio.

3.1.1.1 Diseño de la investigación

Experimental: porque se midió el tiempo de exposición a la piel del animal

3.1.1.2 Población y muestra

3.1.1.3 Población animal: Se utilizaron ratas albinas machos, de la cepa Holtzman (adultos), con un peso promedio de 200- 250 g.

3.1.1.4 Muestra animal: Se utilizaron ratas albinas cepa Holtzman, según los procedimientos 404 y 427 de la OECD/OCDE, teniendo en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

3.2 Criterios de Inclusión

- Ratas cepa Holtzman de 200-250g de peso corporal.
- Ratas cepa Holtzman que después de rasurar se encuentre integra la piel.
- Los animales que presenten reacción negativa en una prueba anterior de irritación cutánea sólo podrán ser utilizados luego de un periodo de descanso de por los menos una semana.
- Ratas que presentaron buena salud.

3.3 Criterios de exclusión:

- Ratas cepa Holtzman de peso corporal menor 200g y mayor de 250g.
- Ratas cepa Holtzman, que después de rasurar se observen problemas en la piel. Animales que fueron utilizados para la prueba con sustancias que alteran el color de la piel.
- Ratas que no presentaron buena salud.
- Ratas que presentan reacción positiva en una prueba anterior de irritación cutánea.

3.4 Procedimiento experimental

3.4.1 Aclimatación y cuarentena: Los animales estuvieron sometidos a un periodo de acondicionamiento y aclimatación con agua y comida *ad libitum* por 7 días según las condiciones experimentales, mantenidos en jaulas individuales en todo el periodo de la prueba, a una temperatura constante de 20 - 25° C y humedad relativa entre 70 - 80° C, con un ciclo luz/oscuridad 12 x 12 horas (lineamientos determinados en el bioterio del Imet).

3.4.2 Selección: Se seleccionaron sólo los animales que cumplen con los criterios de inclusión para el presente ensayo.

3.4.3 Preparación de los animales: Las ratas fueron depiladas en la región dorsal, 24 horas antes de iniciarse el ensayo, con ayuda de un rasurador y crema depiladora. Se tomaron los cuidados necesarios para evitar que se erosione la piel y sólo aquellos animales con la piel intacta fueron utilizados. Posteriormente, se seleccionaron los sitios de piel adecuados para el ensayo y se aplicaron la pomada DERMOIMET en un área aproximada de 500mm² (2.5 cm x 2.5 cm).

3.4.4 Prueba de irritación aguda cutánea

El estudio se llevó a cabo según lo estipulado por la **OECD N°404**, en ratas; 24 horas antes de iniciar los experimentos, la parte dorsal de los animales fue afeitada en un área aproximada de 500mm² (2.5x2.5cm). La pomada y los

grupos controles se aplicaron por separado en los diferentes grupos experimentales. El área de aplicación estuvo cubierta con una gasa hipoalergénica, luego de 24 horas, se retiraron los parches y se lavó la zona de aplicación con agua destilada estéril. Posteriormente, se procedió a buscar signos de inflamación en la piel. Las lecturas de los sitios tratados se efectuaron a las 24, 48 y 72 horas después de haber retirado el parche ⁽⁶⁾.

Los estudios anátomo-patológico se llevaron a cabo en el Laboratorio de Patología del Hospital III –Essalud.

3.4.5 Prueba de toxicidad aguda cutánea

Se llevaron a cabo para determinar la dosis tóxica de la pomada DERMOIMET. La toxicidad aguda por vía cutánea de la pomada DERMOIMET se hizo mediante la aplicación de la pomada en la parte dorsal de ratas albinas cepa Holtzman. Las directrices de **la OECD N° 427** fueron seguidas durante el estudio.

3.4.6 Selección y agrupación de los animales: Los animales experimentales se dividieron aleatoriamente, en grupos de 5 ratas, de la siguiente manera:

- **Grupo 1:** Animales no tratados (control negativo).
- **Grupo 2:** Animales tratados tópicamente con la pomada base (cera de abeja). (grupo placebo).
- **Grupo 3:** Animales tratados tópicamente con la crema de referencia estándar PROCICAR (Óxido de zinc, calamina) – control positivo.
- **Grupo 4:** Animales tratados tópicamente con la pomada DERMOIMET.

3.4.7 Preparación del animal: Veinticuatro horas antes del inicio de la prueba, se procedió a rasurar el 10% de la superficie corporal, en la región dorsal. Se utilizaron 20 machos repartidos en 4 grupos.

3.4.8 Aplicación de la pomada DERMOIMET y los controles: se realizaron en una única dosis, el mismo que se aplicó en el dorso rasurado del animal,

luego se cubrió con una gasa hipoalergénica durante 24 horas, transcurridas el tiempo, se retiró el parche y se lavó la zona con abundante agua estéril, posteriormente se procedió a buscar signos de inflamación en la piel. El periodo de observación fue de un mínimo de 14 días donde se observó la aparición de posibles manifestaciones clínicas como eritemas o edemas en las zonas tratadas ⁽⁵⁾.

3.4.9 Registro del peso corporal (gramo): Los animales fueron marcados y pesados, los mismos se anotaron en las tarjetas de registro de farmacología, para la identificación de cada uno de ellos por cada grupo experimental. El peso corporal se registró de acuerdo a lo establecido por la OECD 404 y 427 respectivamente. Se registró a los: 0, 7 y 14 días. Al día 14, se realizó necropsia a todos los animales examinando la anatomía de los órganos y se tomaron muestras de: hígado, pulmón y riñón así como de la piel tratada para su procesamiento histopatológico ⁽⁵⁾.

3.4.10 Obtención del índice de irritación primaria: Se obtuvo de acuerdo a los datos recolectados en la prueba de formación de eritema-escara y edema, la misma que es igual a la suma del promedio de eritema y edema dividido entre el número de parches.

De acuerdo a los datos obtenidos de la evaluación de la pomada DERMOIMET se reporta como promedio de edema y eritema entre 0 y 2 (son sustancias que aprueban el ensayo y no son irritantes a la piel), por el contrario si el valor promedio supera el grado 2 o más entonces son irritantes a la piel de los animales de experimentación y por ende será irritante a la del humano.

3.4.11 Observación microscópica (histopatología): Los resultados de la histopatología que reportó el responsable del Laboratorio de Histopatología del Hospital III - Essalud; fueron presentados en un informe técnico y mostrando fotografías que evidencien signos de daño celular.

3.5 Materiales, equipos y reactivos

3.5.1 Materiales

3.5.1.1 Material vegetal: Pomada Dermoimet

3.5.1.2 Material biológico y otros: *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann

3.5.1.3 Material de laboratorio: mascarillas descartables, rasuradora, guantes descartables, crema depiladora, gasa hipoalergénica, papel toalla, jaulas metálicas, lentes de protección, cubre calzados, gorros, tijeras quirúrgicas, mandilones jeringa descartable con aguja de 5, 10 y 20 mL. Kit de disección recipiente de plástico probeta 500 mL.

3.5.1.4 Material de escritorio: lupa, papel A4.

3.5.2 Equipo: balanza analítica *Sartorius* con sensibilidad a la 0,1 de miligramo, balanza digital para pesar los animales.

3.5.3 Reactivos, insumos y drogas: agua destilada estéril, alcohol 96°, crema Procicar, formol 10%, cera de abeja, pomada DERMOIMET.

3.6. Instrumento de recolección de datos

3.6.1 Tarjetas de registro de farmacología (Anexo 7).

3.6.1.2 Procesamiento de recolección de datos

Para el análisis estadístico, se llevó a cabo en el programa SPSS v.22 aplicando el test de Duncan's. Un *p-value* de $p < 0.05$ fue considerado que existen diferencias significativas entre los valores obtenidos de los tratamientos.

3.6.1.3 Consideraciones éticas

Los animales fueron tratados teniendo en cuenta la Declaración universal de los derechos del animal, aprobada en Londres (23 de septiembre de 1977), referida a protección de los animales y la Constitución y legislación peruana. Estos documentos norman el uso de animales en experimentación e investigación.

CAPITULO IV

4.1 RESULTADOS

Tabla 3. Descriptivos de los grupos de estudio – Irritación Aguda Cutánea

Grupos	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
Sin Tratamiento	5	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Crema Base	5	0,4000	0,0076	0,0034	0,3905	0,4095
Procicar	5	0,0666	0,0015	0,0007	0,0648	0,0686
Dermoimet	5	0,1999	0,0006	0,0003	0,1991	0,2008
Total	20	0,1666	0,1567	0,0351	0,0933	0,2400

En la tabla 3, se observa los estadísticos de los grupos de estudio donde la crema base se obtuvo un promedio de 0,4000 de índice de irritación aguda cutánea con un error estándar de 0,0034; mientras que el producto Procicar el promedio fue de 0,0666 con error estándar de 0,0007 y el Dermoimet que es el producto de estudio en la presente investigación el promedio fue de 0,1999 con error estimado de 0,0003. Asimismo, se observa para cada grupo los respectivos intervalos de confianza al 95%.

Tabla 4. Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – Irritación Aguda Cutánea

Grupos	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Crema Base	0,237	5	0,200*	0,948	5	0,721
Procicar	0,269	5	0,200*	0,937	5	0,645
Dermoimet	0,276	5	0,200*	0,933	5	0,616

b. Corrección de significación de Lilliefors

En la tabla 4, se observa que todos los grupos presentan normalidad (ya que ésta nos permite realizar pruebas paramétricas), luego de comparar el valor de la sig = 0,200(20,0%) mayor que el valor de $\alpha = 0,05$ (5%) aplicando la prueba de Kolmogorov – Smirnov.

Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas – Irritación Aguda Cutánea

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,365	3	16	0,045

En la tabla 5, se muestra los resultados de la prueba para determinar si los grupos presentan varianzas homogéneas, siendo un valor de sig = 0,045, la misma que demuestra que los grupos no presentan varianzas homogéneas.

Tabla 6. Análisis de varianza de los grupos de estudio – Irritación Aguda Cutánea

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Grupos	0,467	3	0,156	10200,618	0,000
Error	0,000	16	0,000		
Total	0,467	19			

En la tabla 6, se observa los resultados del análisis de varianza siendo la sig = 0,000 un valor menor que el valor de $\alpha = 0,05$, y éste valor demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio según el nivel de irritación aguda cutánea; es decir, que los grupos producen diferente nivel de irritación.

Tabla 7. Comparaciones múltiples entre los grupos – Irritación Aguda Cutánea
T3 Dunnett

(I) Muestras	(J) Muestras	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Sin Tratamiento	Crema Base	-0,400000*	0,003411	0,000	-0,41489	-0,38511
	Procicar	-0,066680*	0,000688	0,000	-0,06968	-0,06368
	Dermoimet	-0,199960*	0,000299	0,000	-0,20127	-0,19865
Crema Base	Procicar	0,333320*	0,003480	0,000	0,31872	0,34792
	Dermoimet	0,200040*	0,003424	0,000	0,18521	0,21487
Procicar	Dermoimet	-0,133280*	0,000750	0,000	-0,13612	-0,13044

*La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05 (5%)

En la tabla 7, se observa los resultados de las comparaciones múltiples entre los grupos de estudio aplicando la prueba T3 Dunnett (prueba que se realiza cuando las varianzas de los grupos no son homogéneos), encontrándose que el grupo sin tratamiento produce diferente irritación respecto a la crema base, producto Procicar y Dermoimet con valores de sig = 0,00, sig = 0,000 y sig = 0,000 respectivamente. Asimismo el grupo crema base produce diferente irritación respecto al Procicar y Dermoimet con valores de sig = 0,000 y sig = 0,000. Existe también diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de irritación del Procicar y el Dermoimet con valor de sig = 0,000.

Tabla 8. Descriptivos de los grupos de estudio – Toxicidad Aguda Cutánea

Grupos	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
Sin Tratamiento	5	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Crema Base	5	0,1144	0,0098	0,0044	0,1023	0,1266
Procicar	5	0,0858	0,0116	0,0052	0,0714	0,1002
Dermoimet	5	0,0566	0,0173	0,0077	0,0351	0,0781
Total	20	0,0642	0,0447	0,0099	0,0433	0,0851

En la tabla 8, se observa los estadísticos de los grupos de estudio donde la crema base se obtuvo un promedio de 0,1144 de índice de toxicidad aguda cutánea con un error estándar de 0,0044; mientras que el producto Procicar el promedio fue de 0,0858 con error estándar de 0,0052 y el Dermoimet que es el producto de estudio en la presente investigación el promedio fue de 0,0566 con error estimado de 0,0077. Asimismo, se observa para cada grupo los respectivos intervalos de confianza al 95%.

Tabla 9. Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio - Toxicidad Aguda Cutánea

Grupos	Kolmogorov-Smirnov ^b		Shapiro-Wilk	
	Estadístico	gl Sig.	Estadístico	gl Sig.
Crema Base	0,195	5 0,200*	0,981	5 0,942
Procicar	0,172	5 0,200*	0,968	5 0,861
Dermoimet	0,270	5 0,200*	0,879	5 0,304

b. Corrección de significación de Lilliefors

En la tabla 9, se observa que todos los grupos presentan normalidad, luego de comparar el valor de la sig = 0,200(20,0%) mayor que el valor de $\alpha = 0,05$ (5%)

aplicando la prueba de Kolmogorov – Smirnov. La misma conclusión se obtiene aplicando la prueba de normalidad de Shapiro – Wilk. El análisis de normalidad nos permite realizar pruebas paramétricas.

Tabla 10. Prueba de homogeneidad de varianzas - Toxicidad Aguda Cutánea

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
6,618	3	16	0,004

En la tabla 10, se muestra los resultados de la prueba para determinar si los grupos presentan varianzas homogéneas, siendo el valor de sig = 0,004 menor que $\alpha = 0,05$ y esto indica que los grupos no presentan varianzas homogéneas.

Tabla 11. Análisis de varianza de los grupos de estudio - Toxicidad Aguda Cutánea

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Grupos	0,036	3	0,012	90,172	0,000
Error	0,002	16	0,000		
Total	0,038	19			

En la tabla 11, se observa los resultados del análisis de varianza siendo la sig = 0,000 un valor menor que el valor de $\alpha = 0,05$, esto demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio según el nivel de toxicidad aguda cutánea; es decir que los grupos producen diferente nivel de toxicidad.

Tabla 12. Comparaciones múltiples entre los grupos - Toxicidad Aguda Cutánea

(I) Muestras	(J) Muestras	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Sin Tratamiento	Crema Base	-0,114400*	0,004377	0,000	-0,13351	-0,09529
	Procicar	-0,085800*	0,005190	0,000	-0,10846	-0,06314
	Dermoimet	-0,056600*	0,007737	0,000	-0,09038	-0,02282
Crema Base	Procicar	0,028600*	0,006790	0,016	0,00559	0,05161
	Dermoimet	0,057800*	0,008889	0,003	0,02579	0,08981
Procicar	Dermoimet	0,029200	0,009317	0,080	-0,00332	0,06172

*La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05 (5%)

En la tabla 12, se observa los resultados de las comparaciones múltiples entre los grupos de estudio aplicando la prueba T3 Dunnett (prueba que se aplica cuando las varianzas de los grupos no son homogéneas), encontrándose que el grupo sin tratamiento produce diferente toxicidad respecto a la crema base, producto Procicar y Dermoimet con valores de sig = 0,00; sig = 0,000 y sig = 0,000 respectivamente. Asimismo el grupo crema base produce diferente toxicidad respecto al Procicar y Dermoimet con valores de sig = 0,016 y sig = 0,003. Sin embargo, entre el Procicar y el Dermoimet no existe diferencia estadísticamente significativa en el nivel de toxicidad que producen, según sig = 0,080. En síntesis el producto Dermoimet produce nivel de toxicidad diferente al grupo sin tratamiento y a la crema base, pero no existe diferencia con el Procicar.

Determinación de daño celular: láminas histopatológicas

- Observación macroscópica

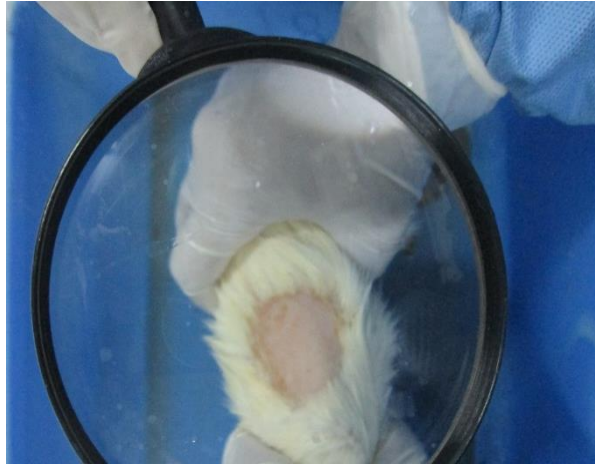


Figura 2: Observación de irritación aguda cutánea

La figura 2 muestra el primer día de inicio de observación de irritación aguda cutánea en piel de ratas, después de concluida el tratamiento en los diferentes grupos experimentales.

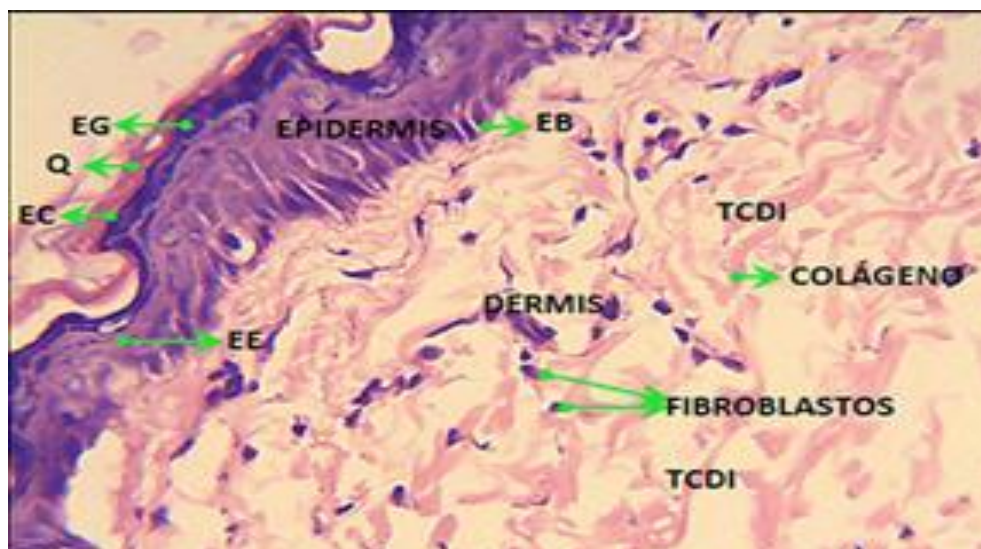


Figura 3: Anatomía microscópica de piel dorsal de ratas Wistar.40x

En la figura 3, se detalla la anatomía microscópica de piel dorsal de ratas Wistar 40X, siendo EC: Estrato córneo, EG: Estrato granuloso, EE: Estrato espinoso, EB: Estrato basal, Q: Queratina, TCDI: Tejido conectivo denso irregular

- OBSERVACIÓN MICROSCOPICA DE PRUEBA DE IRRITACION AGUDA CUTANEA

Muestra: piel

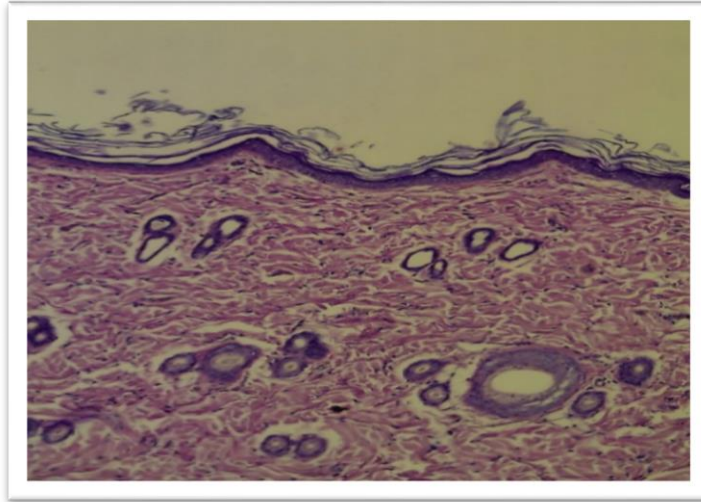


Figura 4. Grupo experimental - sin tratamiento (control negativo)

En la figura 4, se muestra fragmento de piel con epidermis delgada y ortoqueratina. Dermis superficial y profunda con folículos pilosos sin alteraciones microscópicas.

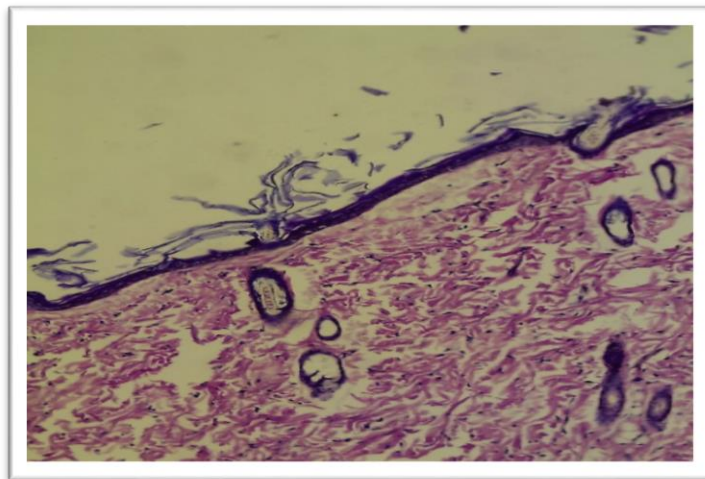


Figura 5. Grupo experimental - crema base

En la figura 5, se muestra fragmento de piel con epidermis delgada, queratina laminar, dermis superficial con leve infiltrado inflamatorio linfocitario difuso. Folículos pilosos sin alteraciones microscópicas.

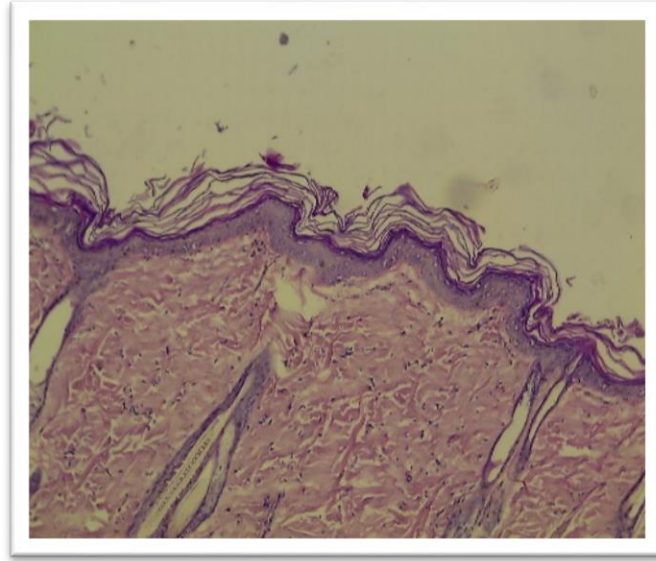


Figura 6. Grupo experimental –Procicar (control positivo)

En la figura 6, se muestra fragmento de piel con epidermis adelgazada y ortoqueratina laminar. Dermis superficial y profunda con poco infiltrado inflamatorio linfocitario difuso. Folículos pilosos sin alteraciones microscópicas

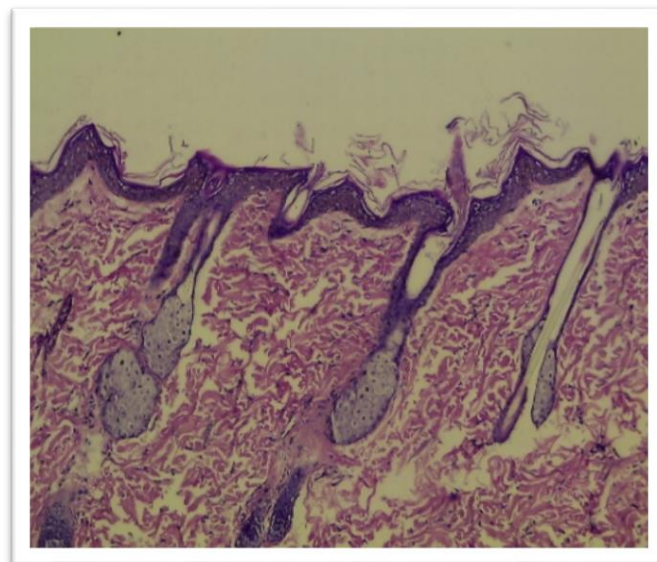


Figura 7. Grupo experimental – DERMOIMET (muestra problema)

En la figura 7, se muestra fragmento de piel con epidermis delgada, queratina laminar. Dermis superficial y profunda con presencia de folículos piloso sin alteraciones microscópica.

- OBSERVACIÓN MICROSCOPICA DE PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CUTANEA

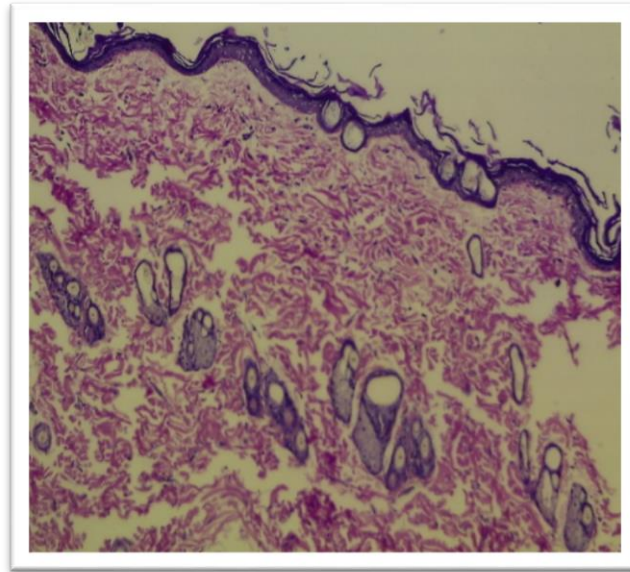


Figura 8. Grupo experimental – sin tratamiento (control negativo)

En la figura 8, se observa fragmento de piel con epidermis delgada, capa del estrato corneo laminar. Dermis superficial y profunda con glándulas sebáceas y folículos pilosos sin alteraciones microscópicas

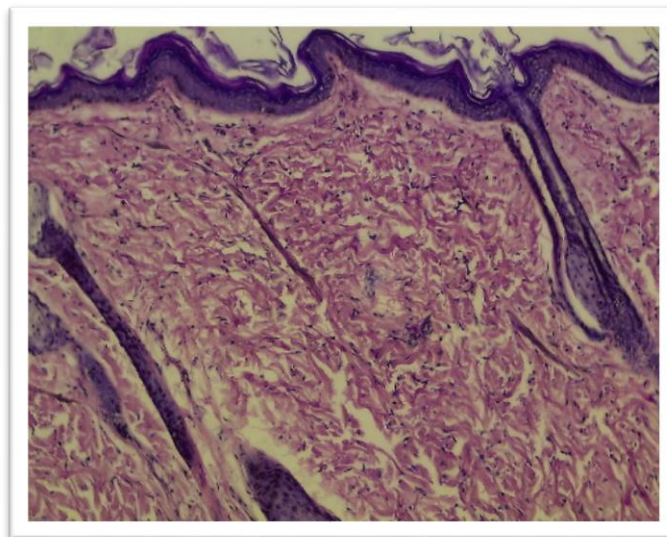


Figura 9. Grupo experimental – CREMA BASE

En la figura 9, se observa fragmento de piel con epidermis delgada con ortoqueratina laminar. Dermis superficial y profunda con poco infiltrado inflamatorio linfocitario difuso. Folículos pilosos sin alteraciones microscópicas.

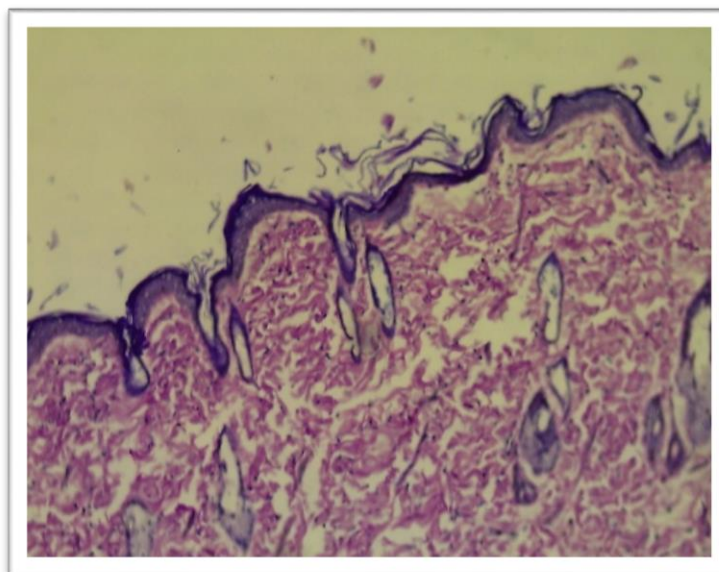


Figura 10. Grupo experimental – Procicar (Control positivo)

En la figura 10, se observa fragmento de piel con epidermis delgada, y capa córnea laminar. Dermis superficial y profunda con glándulas sebáceas y folículos linfoides sin alteraciones microscópicas.

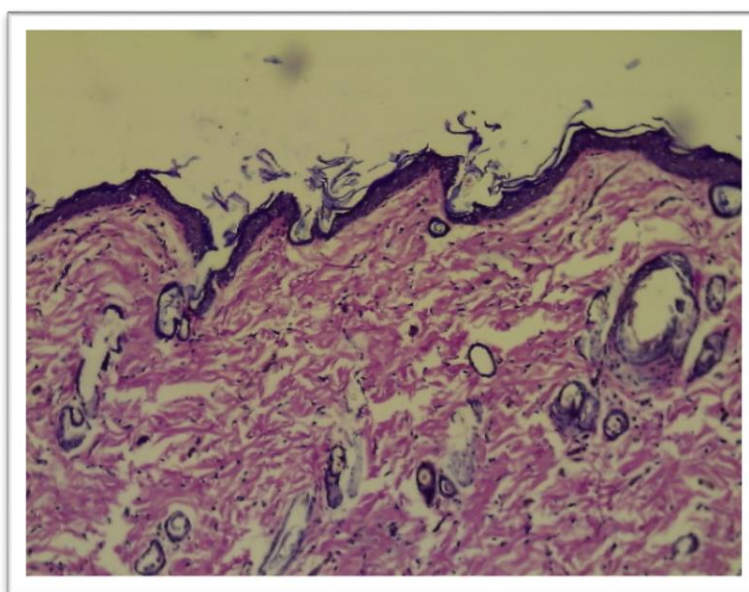


Figura 11. Grupo experimental – DERMOIMET (Muestra problema)

En la figura 11, se observa fragmento de piel con epidermis delgada y capa cornea laminar. Dermis superficial y profunda con folículos linfoides sin alteraciones microscópicas.

4.2 DISCUSION

El presente estudio de investigación muestra los resultados obtenidos de la evaluación del potencial irritante de la pomada DERMOIMET, en piel de ratas albinas cepa holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea, la misma que ha sido evaluada a través del Test de Draize.

El índice de irritación aguda cutánea obtenido en la presente investigación fue de 0.20; y este valor según la escala del Test de Draize se encuentra dentro de la categoría INSIGNIFICANTE, el mismo que concuerda con el estudio de López M *et al* (2014) en “Determinación de Toxicidad Aguda Tópica e Irritabilidad Dérmica de la decocción de hojas de *Piper Kunth* (Caisimón de anís)”, utilizando la OECD 404 para irritabilidad obteniendo un valor de 0, donde concluyeron que no se apreciaron signos y síntomas de toxicidad por la absorción dérmica en las ratas.

Asimismo, concuerda con el estudio de Kuch M *et al* (2014) en “Evaluación del potencial irritante del aceite esencial de Aniba rosaeodora ducke “PALO DE ROSA” EN *Oryctolagus cuniculus* cepa new zealand. Mediante la escala del Test de Draize en conejos albinos machos, mostrando resultados a nivel macroscópico del aceite esencial de Aniba rosaeodora ducke “Palo de rosa”, con un índice de irritación primaria de 0.21, considerando este resultado como insignificante.

En la prueba de irritación aguda cutánea, según observación microscópica, la figura 7 muestra fragmento de piel con epidermis delgada, queratina laminar; dermis superficial y profunda con presencia de folículos piloso sin alteraciones microscópicas. Asimismo, la figura 11, muestra fragmento de piel con epidermis delgada y capa cornea laminar; dermis superficial y profunda con folículos linfoides sin alteraciones microscópica, no existiendo para ambos casos alguna alteración en la estructura de la dermis y epidermis, coincidiendo con lo descrito por Velázquez B.*et al.* (2010), quienes llevaron a cabo la caracterización toxicológica en tinturas de cortezas de *Eucalyptus citriodora* Hook. y *Eucalyptus saligna* al 20 y 83 % respectivamente; donde los animales

utilizados en el ensayo de toxicidad dérmica aguda, no mostraron signos clínicos que evidenciaran un proceso tóxico.

4.3 CONCLUSIONES

La pomada DERMOIMET no provoca potencial irritante en piel de ratas albinas cepa holtzman, según modelo de irritación y toxicidad aguda cutánea, la misma que ha sido evaluada a través del Test de Draize.

La pomada DERMOIMET es una pomada tipo cerato, provoca en la piel de ratas albinas un eritema ligero (apenas perceptible) de grado 1 durante toda la fase de evaluación.

La pomada DERMOIMET, no provoca edema en la piel de ratas albinas en toda la fase de evaluación.

La pomada DERMOIMET, no es irritante en la piel de ratas, ya que se obtuvo un IIP de 0,20 considerándose para este caso una irritación de tipo insignificante.

La pomada DERMOIMET cumple con los criterios microbiológicos de la USP39 para productos farmacéuticos de uso cutáneo.

La pomada DERMOIMET, presentó una leve hiperqueratosis en todas las ratas tratados.

4.4 RECOMENDACIONES

Realizar estudios químicos de la pomada DERMOIMET, mediante la espectrofotometría de masa, ultravioleta visible (UV-Vis), infrarrojo (IR) y otros.

Realizar estudios de toxicidad crónica para determinar efectos tóxicos acumulativos o efectos carcinogénicos.

4.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abayomi S., Eyitope O., Adedeji O. The Role and Place of Medicinal Plants in the Strategies for Disease Prevention. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2013; 10(5): 210–229. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3847409/>
2. Reglamentación de Cosméticos [Texto refundido]. Monografía de divulgación No. 13: 11,19, 22-23,25. Dirección General de Farmacia y productos sanitarios. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid: 2003
3. Wilhelmus KR. The Draize eye Test. [Internet] 2001. [Consultado el 30 de junio del 2017]. *Surv Ophthalmol* 45, 493-515. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11425356>
4. McGuigan M. Toxicología de la terapia tópica. [Internet] 1989 [Consultado el 26 de Febrero del 2017]; 7(3):32. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2680021>
5. OECD 404. Acute Dermal Toxicity. OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. Adopted: 24 feb 1987. [Internet]. [Consultado el 15 de Marzo del 2017] .Disponible en: https://www.oecd.org/env/ehs/testing/TG%20402_final%20draft_updated%20Aug%202016_for%20final%20comments.pdf
6. OECD 427. Skin absorption: In vivo Method. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 4. Adopted: 23 Nov 2004. [Internet]. [Consultado el 15 de Marzo del 2017] .Disponible en: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9742701e.pdf?expires=1507048660&id=id&accname=guest&checksum=CD5283FF2C060D655FAC6AD94F363397>
7. Cooke A, Cork M, Victor S, Campbell M, Danby S, Chittock J, Lavender T. Aceite de Oliva, Aceite de Girasol o Ningún Aceite para Bebés Piel Seca o Masaje: Un Estudio Piloto, Controlado Aleatorizado, Controlado

Aleatorizado (el Estudio de SkincaRE en el Aceite en el Bebé).Acta Derm Venereol. [Internet] 2016. [consultado el 22 marzo del 2017] 96: 323–330. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26551528>

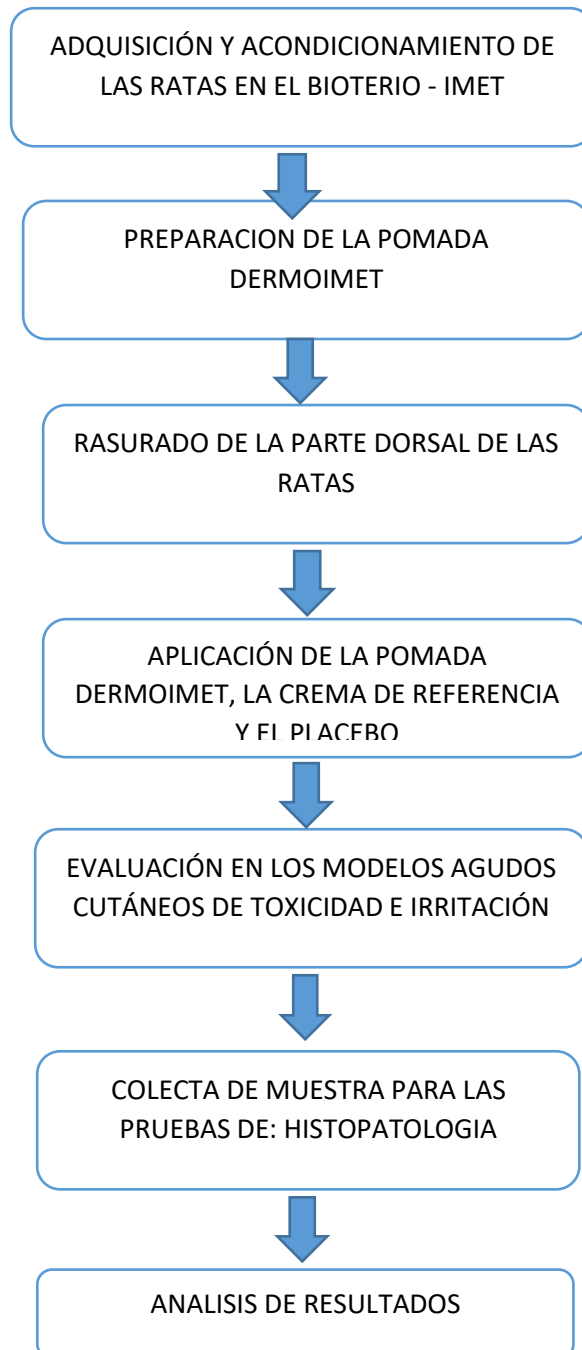
8. López M, García A, Boucourt E, Morejón Z. Toxicidad tóxica aguda e irritabilidad dérmica de la decocción de *PiperauritumKunth* (Caisimón de Anís).Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet] 2014.[Consultado el 04 de abril del 2017];19(1):443-450. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000400015
9. Albuquerque P, Da Rocha T, Fernández A, Araujo J. Evaluación del extracto de la *Zeyheria tuberculosa* en la perspectiva de un producto para cicatrización de heridas. Rev. Latino-Am. Enfermagem. [Internet] 2014 [Consultado el 27 de julio del 2017]; 22(1):165-72. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-11692014000100165&script=sci_arttext&lng=es
- 10.Kuch G, Carpio A. Evaluación del potencial irritante del aceite esencial de *Aniba rosaeodora ducke* “palo de rosa” en *Oryctolagus cuniculus* cepa new zealand (Tesis pregrado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana 2014
- 11.Mosquera T., Noriega P., *et al.* Evaluación de la eficacia cosmética de cremas elaboradas con aceites extraídos de especies vegetales amazónicas: *Mauritiafleuxosa*(morete), *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) y *Oenocarpusbataua*(Ungurahua). La Granja, Rev. de ciencia de la vida, 15(2) 2012: 14-22.
- 12.Velázquez B., Barreto G., Fernández N. “Caracterización toxicológica en tinturas de cortezas de *Eucalyptuscitriodora* Hook. y *Eucalyptussaligna* Sm. al 20 y 83 %”. Revista de Producción Animal. 2010, Vol. 22 Issue 1, p31-35. 5p. Disponible en: <http://en.ustc.findplus.cn/?h=articles&db=a9h&an=108668550>

13. García C., Bueno V., García G., Tillán J. Estudio toxicológico de un producto derivado de la caña de azúcar. Rev Cubana Farm v.31 n.2 Ciudad de la Habana ene.-ago. 1997. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75151997000200010&script=sci_arttext
14. Cordero A. Estructura y funciones de la piel. Woscoff A, Kaminsky A, Marini M, Allevato M. Dermatología en medicina interna. 2nd ed. Buenos Aires: Artes Gráficas El Fénix S.R.L; 2006. 1-10.
15. Yamamoto M. Fisiología de la piel. Revista Peruana de Dermatología Vol. 11 (2). 2001.
16. Pérez J, Gardey A. Definición de: Pomada. [Internet] 2015 [Consultado el 01 de Febrero del 2017]. Disponible en: <http://definición.de/pomada/>
17. Pomadas (FA7). [Internet] 2010. [Consultado el 15 de Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/tecnofarma/wp-content/uploads/2010/08/Pomadas.pdf>
18. Principio activo: definición. Disponible en: <http://definicion.de/principio-activo>. Fecha de acceso 26 de Marzo 2017
19. Excipientes: definición. Glosario de términos farmacológicos. Disponible en: <http://glosario.sld.cu/terminos-farmacologicos/2011/04/29/excipiente/> Fecha de acceso: 27 de Marzo 2017
20. Gómez A. La cera de abeja control y factores de calidad. (2002). Disponible en: <http://www.mioldemalaga.com/asociacion/jornadas/ponencias/texto04-4.pdf> Fecha de acceso: 25 de Marzo 2017
21. Serna J., Vitales M. López M.C. Dermatología. Disponible en: <http://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo2/CAP04.pdf> Fecha de acceso: 25 de Marzo 2017.

22. Eritema: definición. Disponible en: <http://salud.ccm.net/faq/8145-eritema-definicion> Fecha de acceso: 23 Marzo 2017.
23. De la Torre A., Figueroa J., Martínez L. (2001). El código de ética en la experimentación animal no puede ser letra muerta. Centro para el control estatal de la calidad de los medicamentos. Anuario Toxicología 1(1):140-5.
24. Kemelmajer Aída (2009). La categoría jurídica "sujeto/objeto" y su insuficiencia respecto de los animales. Especial Referencia a los animales usados en el laboratorio: p 6-8. Consultado el 27 diciembre del 2016.

4.6 ANEXOS

Anexo 1: FLUJOGRAMA- Evaluación del efecto toxicológico de la pomada DERMOIMET



Anexo 2: Constancia del Comité Institucional de ética para el uso de animales en investigación del Instituto Nacional de Salud

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA

Jefatura
Capac Yupanqui N° 1400
Jesús María - Lima 11
Central: 748-1111
e-mail: jefatura@ins.gob.pe
postmaster@ins.gob.pe
Web: www.ins.gob.pe

Centro Nacional de Salud
Pública
Capac Yupanqui N° 1400
Jesús María - Lima 11
Central: 748-1111
e-mail: cnsp@ins.gob.pe

Centro Nacional de
Alimentación y Nutrición
Tizón y Bueno N° 276
Jesús María - Lima 11
Central: 748-0060
e-mail: cenan@ins.gob.pe

Centro Nacional de Control de
Calidad
Av. Defensores del Morro N°
2268 (ex Huaylas) Chorrillos -
Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: cncc@ins.gob.pe

Centro Nacional de Productos
Biológicos
Av. Defensores del Morro N°
2268 (ex Huaylas) Chorrillos -
Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: cnpb@ins.gob.pe

Centro Nacional de Salud
Intercultural
Av. Defensores del Morro N°
2268 (ex Huaylas) Chorrillos -
Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: censai@ins.gob.pe

Centro Nacional de Salud
Ocupacional y Protección del
Ambiente para la Salud
Las Amapolas N° 350
Lince - Lima 14
Central: 748-0077
e-mail:
censopas@ins.gob.pe

Oficina General de
Administración
Av. Defensores del Morro N°
2268 (ex Huaylas) Chorrillos -
Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: oga@ins.gob.pe

El que suscribe, Presidente del Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales en Investigación del Instituto Nacional de Salud, deja constancia que el proyecto de investigación titulado: "EVALUACION DEL EFECTO TOXICOLOGICO DE LA POMADA "DERMOIMET" EN UN MODELO DE IRRITACION Y TOXICIDAD AGUDA CUTANEA" código OEE-0001-17, ha sido Evaluado y Aprobado por nuestro Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales en Investigación, no habiéndose encontrado objeciones en dicho protocolo de acuerdo a los estándares propuestos por nuestro Comité y que se ejecutará bajo la responsabilidad del Blgo. Germán González Aspajo, incluyendo los siguientes documentos:

1. Protocolo de Investigación. Versión N° 2, del 16/05/2017.

La fecha de aprobación tendrá vigencia desde el 16 de mayo del 2017 hasta el 15 de mayo del 2018. Los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento, adjuntando el Informe de Avance de ejecución del estudio.

Notificar inmediatamente al CIEA-INS de cualquier enmienda, desviaciones o incidentes de acuerdo a los términos establecidos, el investigador reportara cada seis (06) meses el avance del proyecto de investigación y alcanzar al término de este estudio un informe final.

Esta aprobación ética del protocolo no implica que esté autorizado para ser ejecutado en nuestro país.

Jesús María, *OR* de junio del 2017


Ricardo López Ingunza
PRESIDENTE
Méd. Vet. Ricardo López Ingunza
Presidente
Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales en
Investigación
Instituto Nacional de Salud

RLI/SHB/cml


Exp. OEE-0001-17

Reg. 3952-17

Pág. 2 de 2

Capac Yupanqui No. 1400, Jesús María, Lima 11
Central: 748-1111, e-mail: postmaster@ins.gob.pe / Página Web: www.ins.gob.pe


Anexo 3: Protocolo de Análisis Límite microbiano



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00043-CPF-2017

ORDEN DE ANÁLISIS : 004339/2017
 SOLICITADO POR : Q.F. NELSON BAUTISTA CRUZ
 MUESTRA : PROTOTIPO POMADA DERMOIMET DEL INSTITUTO DE MEDICINA TRADICIONAL (IMET) - ESSALUD - LORETO

TITULAR DE LA MUESTRA : SEGURO SOCIAL DE SALUD - ESSALUD
 NÚMERO DE LOTE : ----
 CANTIDAD : 01 pote x 800 g aprox.
 FECHA DE RECEPCIÓN : 18 de Enero del 2017
 FECHA DE FABRICACIÓN : S/FF
 FECHA DE VENCIMIENTO : S/FV

Análisis de Límite Microbiano

El análisis de límite microbiano en productos no estériles consta de los siguientes ensayos: pruebas de recuento microbiano y pruebas de microorganismos específicos.

Resultados:

1. Pruebas de Recuento Microbiano: Conteo de ufc/placa (Unidades formadoras de colonias por placa)

Recuento de microorganismos	Dilución 10 ⁻¹		Dilución 10 ⁻²		Dilución 10 ⁻³		Control
Recuento total de microorganismos aerobios (ufc/g)	1	0	0	0	0	0	0
Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras (ufc/g)	0	0	0	0	0	0	0


Recuento total de microorganismos aerobios: Menos de 10 ufc/g
 Recuento total de hongos y levaduras: Menos de 10 ufc/g

2. Pruebas de microorganismos específicos:

Microorganismo	Placa 1	Placa 2	Control
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Salmonella spp</i>	Ausente	Ausente	Ausente


1 gramo de muestra no evidencia presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella spp*.

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"




U. Pinto N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 T. (51) 619-7000 anexo 4824 F. Ap. Postal 4559 - Lima 1

Anexo 4: Protocolo de Análisis Organoléptico y Físicoquímicos



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N° 00046-CPF-2017

ORDEN DE ANÁLISIS	: 004339/2017
SOLICITADO POR	: Q.F. NELSON BAUTISTA CRUZ
MUESTRA	: PROTOTIPO POMADA DERMOIMET DEL INSTITUTO DE MEDICINA TRADICIONAL (IMET) – ESSALUD – LORETO
TITULAR DE LA MUESTRA	: SEGURO SOCIAL DE SALUD - ESSALUD
NÚMERO DE LOTE	: ----
CANTIDAD	: 01 pote x 800 g aprox.
FECHA DE RECEPCIÓN	: 18 de Enero del 2017
FECHA DE FABRICACIÓN	: S/F
FECHA DE VENCIMIENTO	: S/FV

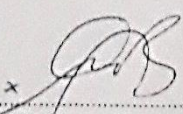
ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO

ENSAYO	MÉTODO	RESULTADOS
Apariencia	Organoléptico	Semisólido
Color	Organoléptico	Amarillo claro
Olor	Organoléptico	Característico
Textura	Organoléptico	Untuoso


ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

ENSAYO	MÉTODO	RESULTADOS
pH	USP 39	4.87
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	USP 39	1.07
Humedad (g%)	USP 39	1.23
Peso Específico	USP 39	0.909
Viscosidad (cps)	USP 39	19866.6
Prueba de Extensibilidad (mm^2)	USP 39	1225
Índice de Saponificación (gKOH/Kg de muestra)	USP 39	29.53
Índice de Yodo (gI_2/g de muestra)	USP 39	3.04
Índice de Peróxido ($\text{m-eqO}_2/\text{Kg}$ de muestra)	USP 39	18.04

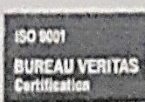
Lima, 31 de enero del 2017




Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Gerente del CENPROFARMA




"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓNICO"





Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 T: (511) 619 7000 anexo 4824 - F: Ap. Postal 4559 - Lima 1
 E: mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe - http://farmacia.unmsm.edu.pe


Anexo 5: Especificaciones para preparaciones farmacéuticas de uso cutáneo



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA





Especificaciones para Preparaciones Farmacéuticas de Uso Cutáneo

Via de Administración	Recuento Total de Microorganismos Aerobios (ufc/g)	Recuento Total Combinado de Hongos Filamentosos y Levaduras (ufc/g)	Microorganismos Específicos
Uso cutáneo	10^2	10^1	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1g. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1g.

Conclusiones:
 El producto Pomada Dermoimet cumple con los criterios microbiológicos de la USP 39 para productos farmacéuticos de uso cutáneo.



Lima, 27 de enero del 2017

Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Gerente del CENPROFARMA

"FARMACIA EN LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Av. Pardo No. 1177 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 T: (51) 619-7000 Anexo 4324 - E: Ap. Postal 4559 - Lima 1
 E-mail: cenprofarma@unmsm.edu.pe - <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

Anexo 6: Escala de evaluación del potencial irritante según Test de Draize

Formación de Eritema-escara:

- a).- No eritema 0
- b).- Eritema ligero (apenas perceptible) 1
- c).- Eritema bien definido 2
- d).- Eritema severo a moderado 3
- e).- Eritema severo (rojo remolacha) a formación de escara que hace imposible la escala de eritema 4


Formación de edema:

- a.- No edema 0
- b.- Edema muy ligero (apenas perceptible) 1
- c.- Edema ligero (bordes del área bien definidos por una pápula) 2
- d).- Edema moderado (pápula de 1mm aprox.) 3
- e).- Edema severo (pápula más de 1 mm pasando el área de exposición) 4

INDICE DE IRRITACION PRIMARIO

Categoría de la reacción	Puntuación Promedio	Criterios de aceptación
Insignificante	De 0.00 a 0.49	Se aprueba (No irritante)
Leve	De 0.50 a 1.99	
Moderada	De 2.00 a 4.99	Se rechaza (Irritante)
Grave	De 5.00 a 8.00	

Anexo 7: Tarjetas de registro de farmacología

	EsSALUD IMET-Instituto de medicina tradicional Iquitos
FICHA DE IDENTIFICACIÓN DE ANIMALES EN ENSAYO	
N° ANIMALES:.....	SEXO: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
FECHA DE INICIO:.....	FEHCA DE TERMINO:.....
ENSAYO:.....	PRODUCTO:.....
COORDINADOR:.....	RESPONSABLE:.....