

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13

Titulo do estudo: Teste de Irritação e Corrosão Cutânea Aguda em Coelhos com a Substância
Teste SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO 300 mL / SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO
800 mL

Metodologia: ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT.
Guideline for testing of chemicals – Section 4: Health Effects: Acute Dermal
Irritation/Corrosion – 404. Paris: Adopted: 24 April 2002. p.1-13.

Diretor de estudo: Diogo Zoltay Alves

Laboratório Executor: BIOAGRI Laboratórios Ltda.
Rod. SP 127, Km 24, Fone: (19) 3429-7700 – Fax: (19) 3429-7713
Cx. Postal: 573 – CEP: 13412-000
Piracicaba – S.P. – Brasil
www.bioagri.com.br; bioagri@bioagri.com.br

Patrocinador: KIMBERLY-CLARK BRASIL IND E COMÉRCIO DE PRODUTOS DE HIGIENE LTDA.
Estrada Casa Grande s/n Km 59 (Estrada Mogi-Salesópolis) CEP: 08710-970
Fone: (11) 4793-5106
Mogi das Cruzes – SP – Brasil

Conclusão do Relatório: 28/Jun/2013

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13

Declaração de acompanhamento do estudo

O estudo descrito neste Relatório do Estudo foi executado sob minha supervisão, de acordo com o Plano de Estudo e procedimentos descritos no Guideline nº 404 da Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD, 2002).

Sua condução usou como base os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) da Norma Nº NIT-DICLA-035-(Rev. 02). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Set/2011 e da OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice. (as revised in 1997). ENV/MC/CHEM(98)17.

Este relatório representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos.

Plano de estudo, cópia do Relatório do Estudo e todos os dados e observações referentes a este estudo, são arquivados na BIOAGRI Laboratórios Ltda.

Os documentos e registros gerados neste estudo serão mantidos nos arquivos da BIOAGRI por um período de 10 anos.


Diogo Zoltay Alves
Diretor de Estudo
Fone: (19) 3429-7700

28 / JUN / 2013
dd mmm aaaa


Paulo Marcos da Silva
Gerente da Instalação de Teste
Fone: (19) 3429-7700

28 / JUN / 2013
dd mmm aaaa

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13
Declaração da Garantia da Qualidade

O relatório foi inspecionado pela Garantia da Qualidade (GQ) – BIOAGRI. As datas e fases de inspeções no estudo estão relacionadas abaixo:

Inspeção		Data das Informações Relatadas	
Data	Fase	Diretor de Estudo	Gerente da Instalação de Teste
27/Mar/2013	Plano de Estudo	27/Mar/2013	27/Mar/2013
12/Abr/2013	RAS 068/13 Preparo da amostra, preparo de soluções, diluições, sistema teste, quarentena/aclimatação do sistema teste, preparo do sistema teste, método de identificação, condições ambientais, dose, pesagem dos animais, aplicação da substância teste, observação de sintomatologia, período de observação e eutanásia.	15/Abr/2013	16/Abr/2013
27/Jun/2013	Relatório do Estudo	28/Jun/2013	27/Jun/2013

A inspeção de processo mais recente da fase laboratorial desta classe de estudo foi realizada entre 08 e 12 de Abril de 2013. Esta inspeção está registrada no documento interno **RAS 068/13**. As datas onde o Diretor de Estudo e Gerente da Instalação de Teste foram informados estão descritas no quadro acima.

Os resultados e observações apresentados neste Relatório de Estudo são uma descrição precisa dos dados brutos gerados durante a condução do estudo. Todos os dados brutos gerados durante a condução do estudo foram inspecionados, bem como emendas e desvios aos planos de estudo.

Andreza Pampolini de Souza
 Andreza Pampolini de Souza
 Inspectora da Garantia da Qualidade

Garantia da Qualidade
 Fone: (19) 3429-7700

28 Jun 2013
 dd mmm aaaa

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13
1. Informações
1.1. Do estudo

Inicio do estudo:	17/Jun/2013
Inicio da fase experimental:	17/Jun/2013
Final da fase experimental:	21/Jun/2013
Conclusão do relatório:	28/Jun/2013
Número da proposta:	075077/ Rev. 02
Corpo técnico:	Diretor de Estudo: Diogo Zoltay Alves Pesquisadora: Kátia Fernanda Claudino Bastelli Pesquisadora: Daniela Ferraz Menezes Técnico de laboratório: Danilo Nascimento de Lima Ajudante de laboratório: Luis Fernando Travaioli Auxiliar de laboratório: Sandra Regina Bombo

1.2. Da substância teste

Substância teste:	SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO 300 ml / SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO 800 ml
Recebida em:	08/Mai/2013
Lote:	44400
Data de fabricação:	Fev/2013
Data de validade:	Fev/2016
Código da Bioagri:	COS-0098/13
Aspecto físico:	Líquido
Composição declarada (%) (patrocinador):	Confidencial
Nome do Ativo:	Álcool etílico
Substância teste enviada por:	KIMBERLY-CLARK BRASIL IND E COMÉRCIO DE PRODUTOS DE HIGIENE LTDA.

2. Objetivo

O objetivo é avaliar o potencial de irritação e/ou corrosão da substância teste SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO 300 ml / SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO 800 ml quando administrada pela via cutânea em coelhos.

3. Definições

Irritação cutânea: Refere-se a produção de lesões reversíveis na pele após a aplicação de uma substância teste por um período de 4 horas.

Corrosão cutânea: Refere-se a produção de lesões irreversíveis na pele como: necrose visível da epiderme até a derme, após a aplicação de uma substância teste por um período de 4 horas. Reações corrosivas são exemplificadas por úlceras, hemorragias, crostas sanguinolentas, e no final do período de observação de 14 dias, por descoloração devido ao empalidecimento da pele, áreas completas de alopecia, e cicatrizes.

Substância teste: é qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13

4. Material e métodos

Este estudo foi conduzido pelo método OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) nº 404, baseando-se nos PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Set/2011 e da OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice. (as revised in 1997). ENV/MC/CHEM(98)17 e Procedimento Operacional Padrão da Bioagri Laboratórios Ltda., POP-M 0855. Rev.09.

4.1. Seleção do sistema-teste

Este estudo foi conduzido em três coelhos brancos, Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), 01 macho e 02 fêmeas, nulíparas e não prenhas, adultos jovens, saudáveis com idade de 11 e 12 semanas, pesando entre 2,0 e 3,0 kg, fornecidos por Fazenda Angolana – São Roque/SP - Brasil.

4.1.1. Justificativa da seleção do sistema-teste

O coelho é a espécie mais usada para testar irritação/corrosão cutânea e é a espécie recomendada por várias agências regulatórias. O coelho é o modelo universal para avaliar toxicidade de várias classes de agentes químicos e para qual existe uma base de dados históricos (Gad & Chengelis, 1998).

4.1.2. Declaração de acompanhamento de bem-estar animal

Este estudo foi realizado em conformidade com todas as leis aplicáveis ao bem estar de uso e cuidado humanitário de animais de laboratório. Sempre que possível, os procedimentos são delineados visando evitar ou minimizar desconforto, angústia ou dor aos animais.

4.2. Preparo do sistema-teste

Os animais empregados neste estudo foram selecionados de uma população estoque saudável. Todos os coelhos foram examinados antes da aclimatação. Os coelhos foram aclimatados nas condições do laboratório por um período de no mínimo 5 dias, antes da aplicação da substância teste.

Aproximadamente 24 horas antes do início do teste, seis áreas no animal número um e duas áreas nos animais número dois e três, com cerca de 6 cm² (aproximadamente), uma no flanco esquerdo e outra no direito de cada animal, foram depiladas com o auxílio de uma máquina de tosa e lâmina de barbear, tomando-se o cuidado para não lesionar a pele dos animais. Somente animais com a pele saudável foram utilizados no estudo.

4.3. Condições de alojamento e alimentação dos animais

Os animais foram individualmente alojados em gaiolas (40x40x40 cm), devidamente identificadas com placas metálicas onde constou o código da amostra, código do estudo, data de início e data de término do ensaio, sexo e espécie. A temperatura da sala dos animais foi mantida em 20°C (± 3°C), bem como a umidade relativa do ar entre 30 e 70%. Luz artificial foi proporcionada aos animais, em ciclos sequenciais de 12 horas de luz e 12 horas sem luz e a troca de ar programada para 10 a 15 trocas/hora.

Ração comercial peletizada para coelhos (Nome Comercial: Presence; Marca: Eialis do Brasil Nutrição Animal Ltda.) foi oferecida *ad libitum*, supridas em cochos metálicos. Amostras de lotes de ração são regularmente avaliadas pela BIOAGRI Laboratórios Ltda. quanto a qualidade microbiológica e micotoxinas que devem estar dentro do padrão de qualidade esperado para ração. Água filtrada foi suprida, *ad libitum*, por um sistema contínuo de distribuição nas gaiolas e é avaliada regularmente quanto a qualidade microbiológica: a mesma atende aos padrões de potabilidade.

4.4. Preparo da substância teste

A substância teste foi aplicada pura.

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13

4.5. Aplicação da substância teste

Com o auxilio de uma seringa estéril, a substância teste foi aplicada no flanco direito na dose de 0,5 mL para cada animal em uma pequena área da pele (aproximadamente 6 cm²) e coberta com uma gaze e fixada com fita hipoalergênica. Após 4 horas da aplicação da substância teste, removeu-se toda a bandagem oclusiva e os resíduos da substância teste, com o auxilio de água purificada. O flanco esquerdo, que permaneceu sem o tratamento foi utilizado como controle.

4.6. Pesagem

O peso de cada animal foi verificado antes da aplicação da substância teste e após o registro da última avaliação.

4.7. Período de avaliação

Todos os animais foram examinados no período de 1, 24, 48 e 72 horas, após a remoção da bandagem semi oclusiva, em relação a reações cutâneas de eritema e edema, sendo essas reações registradas, conforme Tabela 1. Os sinais clínicos também foram observados durante o período de avaliação (Tabela 2)

O grau de irritação cutânea foi obtido de acordo com o sistema de graduações descrito no Quadro 1.

Quadro 1. Sistema de graduação de irritação cutânea

	Sintomas	Valor
Formação de eritema	Ausência de eritema	0
	Eritema muito leve (pouco perceptível)	1
	Eritema bem definido	2
	Eritema moderado a severo	3
	Eritema severo (vermelhidão) a formação de escaras leves (lesões profundas)	4
Formação de edema	Sintomas	Valor
	Ausência de edema	0
	Edema muito leve (pouco perceptível)	1
	Edema leve (extremidade da área do edema bem definida)	2
	Edema moderado (aproximadamente 1 mm)	3
	Edema severo (mais de 1 mm, ultrapassa a área de exposição)	4

Fonte: OECD, 2002.

4.8. Eutanásia dos animais

Os animais deste estudo foram eutanasiados em câmara de CO₂. Após este procedimento, a morte dos animais foi confirmada através do 2º método de eutanásia (concussão cerebral), conforme POP-M 0824 (Rev. 06).

4.9. Classificação da substância teste

O valor médio da irritação cutânea foi estabelecido considerando os valores de eritema e edema para as avaliações de 24, 48 e 72 horas. Para cada período somou-se os valores de edema e eritema separadamente, obtendo um valor médio por animal. A média geral para eritema e edema por animal também foi calculada. A classificação final foi realizada em acordo com o Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals for Human Health – GHS, 2003 (Quadro 2).

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13
Quadro 2. Classificação da substância teste.

Categoria	Classificação	Critério
1	Corrosivo	Destrução do tecido dérmico; Necrose na pele de pelo menos um animal.
2	Irritante	Valores médios $\geq 2,3 - < 4,0$ para eritema/escara ou para edema em pelo menos 2 de 3 animais testados, nas avaliações de 24, 48 e 72 horas após a remoção da bandagem, ou se as reações são tardias, a partir da graduação do 3º dia de avaliação para iniciar as reação na pele; Inflamação que persiste até o término do período de observação de 14 dias, em pelo menos 2 animais, particularmente levando-se em consideração a alopecia (área limitada), hiperqueratose, hiperplasia e escamação, ou Em alguns casos onde existe uma nítida variabilidade de respostas entre os animais, com efeitos positivos bem definidos relacionados a exposição química em um único animal, mas menores que os critérios acima.
3	Irritante Leve	Valores médios $\geq 1,5 - < 2,3$ para eritema/escara ou para edema em pelo menos 2 de 3 animais testados, nas avaliações de 24, 48 e 72 horas, ou se as reações são tardias, a partir da graduação do 3º dia de avaliação para iniciar as reação na pele (quando não incluída na categoria de irritação acima).

Fonte: Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals for Human Health. 2003.

5. Resultados

Os animais não apresentaram reações cutâneas. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 1.
O estudo foi concluído na leitura de 72 horas devido à ausência de reações cutâneas.

Tabela 1. Resultados das reações cutâneas nos animais e médias da graduação nos períodos de 24, 48 e 72 horas, após a aplicação da substância teste.

Animal nº / Sexo	Peso inicial (g)	Reações nos Períodos Avaliados	Após a retirada da bandagem				Média (Período de 24 a 72 h)	Média Geral (eritema + edema)
	Peso final (g)		1 h	24 h	48 h	72 h		
1	2420,6	Eritema	0	0	0	0	0,00	0,00
	2521,8	Edema	0	0	0	0	0,00	
2	2725,7	Eritema	0	0	0	0	0,00	0,00
	2828,9	Edema	0	0	0	0	0,00	
3	2699,4	Eritema	0	0	0	0	0,00	0,00
	2700,5	Edema	0	0	0	0	0,00	

Legenda para Reações Cutâneas:

Ver Quadro1

Na= Não aplicável.

Relatório do Estudo: RE. 413.058.13
Tabela 2. Sinais Clínicos.

Número do animal	Sinais Clínicos			
	Após a retirada da bandagem			
	1 hora	24 horas	48 horas	72 horas
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0

Legenda:

0. Nenhuma alteração observada
 1. Alterações de pele, pelos e olhos
 2. Alteração nas mucosas
 3. Sistema respiratório
 4. Sistema circulatório
 5. Sistema nervoso
 6. Convulsão
 7. Salivação;
 8. Diarréia;
 Na= Não aplicável

9. Letargia;
 10. Tremores;
 11. Hiperqueratose;
 12. Hipertrofia;
 13. Escamação;
 14. Alopecia
 15. Escara;
 16. Outros;
 17. Morte.

6. Conclusão

Considerando os resultados obtidos e a metodologia adotada, a substância teste SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO 300 ml / SCOTT SPRAY ANTISSÉPTICO 800 ml, não foi classificada como irritante, pois a média das graduações cutâneas foi menor que os valores estabelecidos pelo GHS, 2003 para classificação.

7. Referências Bibliográficas

Norma Nº NIT-DICLA-035-(Rev. 02). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Rio de Janeiro. p 19. Set/2011.

DRAIZE, J.H.; WOODARD, G.; CALVERY, H.O. *Methods for the Study of Irritation and Toxicity of Substances Applied Topically to the Skin and Mucous Membrane*. Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics. v. 82, p. 377-390. 1944.

GAD,S.C.; CHENGELIS, C.P. *Acute Toxicology Testing*. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1998. Capítulo 11. p. 305-355: Considerations specific to animal test models.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guideline for testing of chemicals: *Acute dermal irritation/corrosion - 404*. Paris: Adopted: 24 Apr 2002, p.1-13.

United Nations. *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS)*. Chapter 3.3. 2003.

 Fim do relatório
