

**Título do estudo:** Teste de Irritação e Corrosão Cutânea Aguda em Coelhos com o Item de Teste **ARPOSURF PREMIUM**

**Metodologia:** Organisation for Economic Co-operation and Development - OECD  
Guideline for the Testing of Chemicals - Section 4: Health Effects, 404, 2015

**Diretor de estudo:** Luis Paulo Fava

**Laboratório Executor:** **BIOAGRI Laboratórios Ltda.**  
Rod. SP 127, Km 24, Fone: (19) 3429-7700  
Cx. Postal: 573 - CEP: 13412-000  
Piracicaba - SP - Brasil  
[www.merieuxnutrisciences.com](http://www.merieuxnutrisciences.com); [luis.fava@mxns.com](mailto:luis.fava@mxns.com)

**Patrocinador:** **ARPO CHEMIE ET TECHNOLOGIE**  
Z.I. DU VIVIER 22, 1690  
VILLAZ-SAINT-PIERRE - SUIÇA

**Conclusão do Relatório:** 19/Mar/2019

**Relatório do Estudo: RE. 413.0054.18**

---

**Declaração de acompanhamento do estudo**

O estudo descrito neste Relatório do Estudo foi executado sob minha supervisão, de acordo com os procedimentos descritos no Guideline nº 404 da Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD, 2015).

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

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 6 anos.



---

Luis Paulo Fava  
Diretor de Estudo  
Fone: (19) 3429-7700

19 / mar / 2019  
dd mmm aaaa

## Relatório do Estudo: RE. 413.0054.18

### 1. Informações

#### 1.1. Do estudo

Início da fase experimental:	10/Mar/2019
Final da fase experimental:	15/Mar/2019
Conclusão do relatório:	19/Mar/2019
Número da proposta:	06497/18
Corpo técnico:	Diretor de Estudo: Luis Paulo Fava Analista de Laboratório: Bruna Jekimim Goulart Assistente Administrativo: Claudia Contarini

#### 1.2. Item de Teste

Item de teste:	<b>ARPOSURF PREMIUM</b>
Recebida em:	21/Jan/2019
Quantidade recebida:	2180 gramas
Lote:	20319AP001
Data de fabricação:	Jan/2019
Data de validade:	Jan/2021
Código da Bioagri:	SAN-0040-01/19
Aspecto físico:	Líquido
Diluição de uso:	Puro
Dose de aplicação:	0,5 mL
Nome comum do i.a.:	ALKYLAMINA
Peso molecular do i.a.:	299,547 g mol <sup>-1</sup>
Concentração declarada (%) do i.a. (patrocinador):	0,303
Composição declarada (%) (patrocinador):	CONFIDENCIAL
Item de teste enviado por:	PROFILÁTICA PRODUTOS ODONTO MÉDICO HOSPITALARES LTDA

### 2. Objetivo

O objetivo é avaliar o potencial de irritação e/ou corrosão do item de teste **ARPOSURF PREMIUM** quando administrado pela via cutânea em coelhos.

### 3. Definições

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

**Corrosão cutânea:** Refere-se a produção de lesões irreversíveis a pele como: necrose visível da epiderme até a derme, após a aplicação de uma substância 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.

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

#### **4. Material e métodos**

Este estudo foi conduzido pelo método OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) nº 404, e Procedimento Operacional Padrão da Bioagri Laboratórios Ltda., POP-M 1506, Rev.09.

##### **4.1. Seleção do sistema teste**

Este estudo foi conduzido em três coelhos brancos, machos, Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), adultos jovens, saudáveis com idade de 14 semanas, pesando entre 2,0 e 3,0 kg, fornecidos por Granja RG Suzano/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 do item de teste.

Aproximadamente 24 horas antes do início do teste, duas áreas com cerca de 6 cm<sup>2</sup> (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: Evialis 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 do Item de Teste**

O item de teste foi aplicado puro.

#### **4.5. Aplicação do Item de Teste**

O teste foi inicialmente conduzido com um único coelho. Como nenhum efeito corrosivo foi observado no teste inicial, dois animais adicionais foram testados para confirmar a resposta.

Com o auxílio de uma seringa estéril, o item de teste foi aplicado no flanco direito na dose de 0,5 mL do item de teste puro para cada animal em uma pequena área da pele (aproximadamente 6 cm<sup>2</sup>) e então coberta por uma

## Relatório do Estudo: RE. 413.0054.18

gaze porosa, de maneira que houve um bom contato e uma distribuição uniforme da substância-teste na pele. Após a aplicação da substância-teste a gaze foi fixada na área de teste por uma fita adesiva e não irritante (Micropore®). A remoção e a ingestão da substância-teste pelo animal foram prevenidas colocando-se uma fita adesiva apropriada (cobertura semi-oclusiva) ao redor do tronco e da área de teste. As áreas adjacentes depiladas e não tratadas serviram como controle negativo. Após o período de exposição de 3 minutos as gazes foram removidas, qualquer resíduo de substância-teste foi removido com água purificada, devido a não observação de sinais severos, uma segunda aplicação foi realizada em um local diferente e foi removida com água purificada 1 hora após a aplicação. Como nenhuma reação severa foi observada, uma nova aplicação foi realizada em um local diferente e removida com água purificada 4 horas após a aplicação. Após este procedimento as áreas de teste foram examinadas nos intervalos específicos para verificar a presença de sinais de irritação. O teste foi inicialmente conduzido usando um único animal (coelho nº 01) para a avaliação de qualquer efeito irritante/corrosivo da substância-teste para a pele. Como nenhuma reação cutânea severa foi observada no teste inicial, dois animais adicionais (coelhos nº 02 e nº 03) foram testados para confirmar a resposta.

### 4.6. Pesagem

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

### 4.7. Período de avaliação

O primeiro animal foi avaliado após a aplicação do item de teste no período de 3 minutos, 1 e 4 horas. Após a remoção da bandagem semi oclusiva todos os animais foram examinados no período de 1, 24, 48 e 72 horas 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

Formação de eritema	Sintomas	Valor
	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 404, 2015.

### 4.8. Eutanásia dos animais

Após o término das avaliações, cada animal foi anestesiado por uma injeção subcutânea de quetamina, xilazina e cloridrato de tramal e posteriormente foram eutanasiados através de uma injeção intra-cardíaca de T-61®. Após o procedimento, a morte dos animais foi confirmada através do 2º método de eutanásia (exsanguinação), conforme POP-M 0824 (Rev. 08).

### 4.9. Classificação do item de 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, 2017 (Quadro 2).

**Relatório do Estudo: RE. 413.0054.18**
**Quadro 2.** Classificação do item de teste.

Categoria e sub-categorias de corrosão para a pele	
Categoria	Critério
<b>1</b>	Destruição do tecido dérmico; Necrose visível através da epiderme e da derme, em pelo menos 1 animal testado após exposição ≤ 4 horas
<b>Sub-categoria 1 A</b>	Resposta corrosiva em pelo menos 1 animal após exposição ≤ 3 minutos durante um período de observação ≤ 1 hora
<b>Sub-categoria 1 B</b>	Resposta corrosiva em pelo menos 1 animal após exposição > 3 minutos e ≤ 1 hora e observações ≤ 14 dias
<b>Sub-categoria 1 C</b>	Resposta corrosiva em pelo menos 1 animal após exposição > 1 hora e ≤ 4 horas e observações ≤ 14 dias
Categoria Irritante para a pele	
Categoria	Critério
<b>Irritante (Categoria 2)</b>	(1) Valores médios ≥ 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 a reação na pele; (2) 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 (3) 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.
<b>Irritante leve (Categoria 3)</b>	Valores médios ≥ 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 a reação na pele (quando não incluída na categoria de irritação acima).

Fonte: Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals for Human Health, 2017.

**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 no período após a aplicação do item de teste.

Dados dos Animais				Após a aplicação						Após remoção das bandagens								
				3min.		1h		4h		1h		24h		48h		72h		
Animal Nº	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Sexo	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	Edema	Eritema	
1	2631,4	2694,7	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	2849,5	2904,5	♂	Na	Na	Na	Na	Na	Na	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2957,3	3017,8	♂	Na	Na	Na	Na	Na	Na	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Legenda para Reações Cutâneas:

Ver Quadro1

Na= Não aplicável.

## Relatório do Estudo: RE. 413.0054.18

**Tabela 2.** Sinais Clínicos.

Número do animal	Sinais Clínicos						
	Após a aplicação			Após a retirada da bandagem			
	3 min	1 hora	4 horas	1 hora	24 horas	48 horas	72 horas
1	0	0	0	0	0	0	0
2	Na	Na	Na	0	0	0	0
3	Na	Na	Na	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. Hiperplasia;
- 13. Escamação;
- 14. Alopecia
- 15. Escara;
- 16. Outros;
- 17. Morte.

**Tabela 3.** Médias da graduação nos períodos de 24, 48 e 72 horas, após a aplicação do item de teste.

Animal nº	Reações Cutâneas	Período de Avaliação			Média	Média Geral
		24 horas	48 horas	72 horas	(Período de 24,48 e 72 horas)	(Eritema + Edema)
1	Eritema	0	0	0	0	0,0
	Edema	0	0	0	0	
2	Eritema	0	0	0	0	0,0
	Edema	0	0	0	0	
3	Eritema	0	0	0	0	0,0
	Edema	0	0	0	0	

## 6. Conclusão

Nestas condições do estudo, o item de teste **ARPOSURF PREMIUM** foi classificado na categoria “Não Classificado” de acordo com o Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS, 2017).

## 7. Referências Bibliográficas

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.

Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) (ST/SG/AC.10/30/Rev.7). United Nations New York and Geneva, 2017.

OECD (2015). Guidelines for testing of Chemicals: Section 4 Health Effects: Acute Dermal Irritation/Corrosion - 404. Paris: Adopted 28<sup>th</sup> July, p.1-13 OECD (2015). Guidelines for testing of Chemicals: Section 4 Health Effects: Acute Dermal Irritation/Corrosion - 404. Paris: Adopted 28<sup>th</sup> July, p.1-13 .

Fim do relatório