



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA
Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

Relatório do estudo:	RE.421.231.12
Título do estudo:	Teste de Irritabilidade e Corrosão Ocular em Coelhos com a Substância Teste SANIGIZER / KAY ACTIGEL / GEL HIGIENIZADOR
Metodologia:	ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guideline for testing of chemicals – Section 4: Health Effects: Acute Ocular Irritation/Corrosion – 405. Paris: Adopted: 24 April 2002, p.1-14.
Diretora de estudo:	Kátia Fernanda Claudino Bastelli
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:	ECOLAB QUÍMICA LTDA. Av. Gupê N° 10933 – Jardim Belval CEP: 06422-120 Fone: (11) 2134-2676 Fax: (11) 2134-2681 Barueri – SP – Brasil
Conclusão do Relatório:	24/Set/2012



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

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 405 da Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD, 2002) e em conformidade com o documento: Critérios para a Habilitação de Laboratórios Segundo os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL). Procedimento GGLAS 02/BPL. Habilitação de laboratórios junto a REBLAS (Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde) / ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Rev. 00 – 2001, para registro de produtos no Brasil.

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.

Kátia F. Claudino Bastelli
Kátia Fernanda Claudino Bastelli
Diretora de Estudo
Fone: (19) 3429-7700

24 / Set / 2012
dd mmm aaaa

Celso B. Zaccaria
Celso Borges Zaccaria
Gerente da Instalação de Teste
Fone: (19) 3429-7700

24 / Set / 2012
dd mmm aaaa



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA
Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

Declaração da Garantia da Qualidade

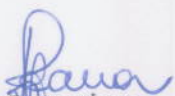
Este estudo foi conduzido segundo os princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) e em conformidade com o documento: Critérios para a Habilitação de Laboratórios Segundo os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL). Procedimento GGLAS 02/BPL. Habilitação de Laboratórios junto a REBLAS (Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde) / ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Rev. 00 – 2001, para registro de produtos no Brasil.

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

Auditoria		Data das Informações Relatadas	
Data	Fase	Diretor de Estudo	Gerente da Instalação de Teste
24/Ago/2012	Plano de Estudo	27/Ago/2012	28/Ago/2012
20/Abr/2012	RAS 0060/12 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.	23/Abr/2012	24/Abr/2012
21/Set/2012	Relatório do Estudo	21/Set/2012	21/Set/2012

A inspeção de processo mais recente da fase laboratorial desta classe de estudo foi realizada entre 16 e 20 de Abril de 2012. Esta inspeção está registrada no documento interno **RAS 0060/12**. 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.


Luis Paulo Fava
Insp. da Garantia da Qualidade

Garantia da Qualidade
Fone: (19) 3429-7700

24 / set / 2012
dd mm aaaa



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA
Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

1. Informações

1.1. Do estudo

Início do estudo:	06/Set/2012
Início da fase experimental:	10/Set/2012
Final da fase experimental:	14/Set/2012
Conclusão do relatório:	24/Set/2012
Número da proposta:	069691 Rev. 00
Corpo técnico:	Diretora de Estudo: Kátia Fernanda Claudino Bastelli Pesquisador: Alexandre Tiago V. Dorelli Ajudante de laboratório: Luis Fernando Travaoli Pessoal: Leandro O. Porta

1.2. Da substância teste

Substância teste:	SANIGIZER / KAY ACTIGEL / GEL HIGIENIZADOR
Recebida em:	31/Jul/2012
Lote:	6120683
Data de fabricação:	Jul/2012
Data de validade:	Jul/2015
Código da Bioagri:	SAN-01902/12
Aspecto físico:	Líquido

Certificado de Análise:	BALFQ-0931/12
Substância teste enviada por:	ECOLAB QUÍMICA LTDA.

2. Objetivo

O objetivo é avaliar o potencial de irritação e/ou corrosão da substância teste SANIGIZER / KAY ACTIGEL / GEL HIGIENIZADOR quando administrada pela via ocular em coelhos.

3. Definições

Irritação ocular: Irritação ocular é a produção de lesões no tecido ocular do animal após a aplicação da substância teste na superfície anterior do olho, as quais são completamente reversíveis dentro de 21 dias.

Corrosão ocular: Corrosão ocular é a perda do tecido ocular do animal, ou sério dano físico da visão, após a aplicação da substância teste na superfície anterior do olho, as quais não são reversíveis dentro de 21 dias.

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



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

4. Material e métodos

Este estudo foi conduzido pelo método OECD 405, em conformidade com os critérios para a habilitação de laboratórios segundo os princípios das boas práticas de laboratório (BPL), GGLAS 02/BPL, habilitação de laboratório junto a REBLAS, segundo Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2001) e Procedimento Operacional Padrão da Bioagri Laboratórios Ltda., POP-M 0853 (Teste de Irritação/Corrosão Ocular em Coelhos – OECD, Revisão 07).

4.1. Seleção do sistema-teste

Este estudo foi conduzido com um coelho branco, Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), fêmea, nulípara e não prenha, adulto jovem, saudável com idade de 14 semanas, pesando entre 2,0 e 3,0 kg, fornecidos por Cláudio Rúbia Lopes – Piracicaba/ SP – Brasil.

4.1.1. Justificativa da seleção do sistema-teste

O coelho é a espécie mais usada para testar irritação/corrosão ocular 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

O animal empregado neste estudo foi selecionado de uma população estoque saudável. O coelho foi examinado antes da aclimação. O coelho foi aclimatado nas condições do laboratório por um período de no mínimo 5 dias, antes da aplicação da substância teste.

O animal previamente selecionado para o teste passou por exames de ambos os olhos no período de 24 horas antes do início do teste. A superfície da córnea de ambos os olhos foi examinada empregando-se fluoresceína sódica a 1% e luz ultravioleta. Animais que apresentaram irritação, defeitos oculares e injúrias nas córneas não foram utilizados. O procedimento foi registrado nos dados brutos.

4.3. Condições de alojamento e alimentação dos animais

O animal foi alojado em gaiola (40x40x40 cm) devidamente identificada com placa metálica onde constou o código da amostra, código do estudo, data de início e data de término do teste, sexo e espécie. A temperatura da sala do animal foi mantida em 20°C ($\pm$ 3°C), bem como a umidade relativa do ar entre 30 e 70%. Luz artificial foi proporcionada ao animal, em ciclos sequenciais de 12 horas de luz e 12 horas sem luz e as trocas de ar programadas para 10 a 15/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 e de água são regularmente avaliadas pela BIOAGRI Laboratórios Ltda./SP e/ou outros laboratórios, quanto a qualidade microbiológica, micotoxinas, composição centesimal e resíduos 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, sendo avaliada quanto a qualidade microbiológica, a mesma atende aos padrões de potabilidade.

4.4. Preparo da substância teste

A substância teste foi aplicada pura.



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

4.5. Dose e aplicação da substância teste

O estudo foi inicialmente conduzido com um animal para avaliar o potencial de irritação/corrosão da substância teste no olho. Devido aos resultados obtidos a substância teste não foi administrada em dois animais adicionais.

A pálpebra inferior do olho direito do animal foi puxada cuidadosamente e com o auxílio de uma seringa estéril foi aplicado 0,1 mL da substância teste pura no saco conjuntival inferior. As pálpebras do animal foram fechadas e mantidas juntas por aproximadamente um segundo, para prevenir perdas do produto. O olho esquerdo do animal, que não recebeu o tratamento foi utilizado como controle. Os olhos do animal foram lavado somente 24 horas após a aplicação da substância teste.

4.6. Pesagem

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

4.7. Período de avaliação

As reações oculares de opacidade e área de comprometimento da córnea, hiperemia dos vasos da íris e hiperemia conjuntival, quemose e secreção nas conjuntivas, foram avaliadas 1, 24, 48 e 72 horas após a aplicação da substância teste.

O grau de reações oculares (córnea, íris e conjuntiva) foi registrado em cada período de avaliação seguindo o Sistema de Graduação de Lesões Oculares, conforme o Quadro 1. Os sinais clínicos dos animais também foram avaliados durante o período de observação (Tabela 2).

Quadro 1. Graduação das reações oculares.

CÓRNEA	
A – Opacidade (grau de densidade)	Graduação
Sem opacidade	0
Área difusa ou disseminada, detalhes da íris claramente visíveis (perda de brilho)	1
Áreas translúcidas facilmente discerníveis, detalhes da íris ligeiramente obscuros	2
Área opalescente, nenhum detalhe da íris visível, tamanho da pupila pouco discernível	3
Opaca, íris invisível	4
B – Área da córnea envolvida	Graduação
Córnea normal	0
Um quarto (ou menos), mas não zero	1
Maior do que um quarto e menor do que a metade	2
Maior do que a metade e menor do que três quartos	3
Maior do que três quartos até a área total	4
ÍRIS	
C - Irite	Graduação
Normal	0
Raias com congestão, edema, injeção circuncorneal (qualquer uma ou todas essas alterações ou a combinação de algumas delas), íris ainda reage à luz (reação lenta é positiva).	1
Nenhuma reação à luz, hemorragia, destruição (qualquer uma ou todas essas)	2
CONJUNTIVAS	
D – Hiperemia (refere-se às conjuntivas palpebrais e bulbares, excluindo-se córnea e íris)	Graduação
Vasos normais	0
Vasos definitivamente injetados acima do normal	1
Vermelho intenso mais difuso e vasos individuais não facilmente discerníveis	2
Vermelho escuro difuso	3
E – Quemose	Graduação
Ausência de edema	0
Alguns edema acima do normal (incluindo a membrana nictante)	1
Edema óbvio com eversão parcial das pálpebras	2
Edema com as pálpebras cobrindo metade do olho	3
Edema com pálpebras cobrindo de metade ao fechamento total do olho	4
F – Secreção	Graduação
Ausência de secreção	0
Qualquer quantidade diferente do normal	1
Secreção com umedecimento das pálpebras e pêlos adjacentes a estas	2
Secreção com umedecimento das pálpebras, pêlos e área considerável ao redor do olho	3

Fonte: OECD -2002.

Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

4.8. Eutanásia dos animais

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

4.9. Classificação da substância teste

Para o animal foi obtida uma leitura considerando-se as reações oculares avaliadas e calculou-se a média de leitura para cada intervalo de tempo.

A definição da classe da substância teste foi realizada de acordo com o *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals for Human Health (GHS)*, 2003, que está descrito no Quadro 2.

Quadro 2. Classificação da substância teste.

Categoria	Classificação	Critério
1	Corrosivo	Lesões na córnea, iris ou conjuntivas em pelo menos um animal, sem expectativa de regressão ou que não tenha regredido completamente dentro do período de 21 dias; e/ou Opacidade na córnea ≥ 3 e/ou irite $> 1,5$ em pelo menos 2 de 3 animais testados. Calculado como a média dos escores nas avaliações de 24, 48 e 72 horas, após instilação da substância teste.
2	Irritante Subcategoria 2 A	Reações observadas em pelo menos 2 de 3 animais testados: Opacidade na córnea ≥ 1 e/ou irite ≥ 1 e/ou hiperemia conjuntival ≥ 2 e/ou edema conjuntival (quemose) ≥ 2 ; Reversão total das reações oculares dentro do período de 21 dias. Calculado como a média dos escores nas avaliações de 24, 48 e 72 horas, após instilação da substância teste.
	Irritante Subcategoria 2 B: Levemente irritante	Mesmos efeitos listados para a categoria 2 A, mas com reversão total das reações oculares em 7 dias.

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

5. Resultados

A Tabela 1 relaciona os pesos do animal e as reações oculares nos períodos avaliados. O peso do animal foi avaliado no início e final do teste.

Tabela 1. Peso inicial e final do animal e reações oculares observadas nos períodos avaliados.

Animal nº		01			
Peso (g)	Inicial	2610,3			
	Final	2668,3			
Sexo		♀			
Tempo de Observação		Horas			
		1	24	48	72
Córnea	Densidade	2	2	2	2
	Área	4	4	4	4
Iris	Irite	1	1	1	1
Conjuntiva	Hiperemia	2	2	2	2
	Quemose	1	2	3	3
	Secreção	+	+	+	+
	Retenção da Fluoresceína	Na	+	+	+

Legenda:

(+) = Presença; (-) = Ausência;

Na = Não Aplicável;

Graduação das reações oculares: ver Quadro 1.



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

O animal apresentou as seguintes alterações no tecido ocular: opacidade, área de opacidade, irite, hiperemia, quemose e presença secreção nas avaliações de 1, 24, 48 e 72 horas e retenção do corante fluoresceína nas avaliações de 24, 48 e 72 horas (Tabela 1).

O animal apresentou o seguinte sinal clínico: necrose das membranas conjuntivas e nictante na avaliação de 72 horas (Tabela 2).

Devido ao animal ter apresentado lesão irreversível (necrose das membranas conjuntivas e nictante), o mesmo foi humanamente eutanasiado, em acordo com a metodologia e normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Bioagri Laboratórios e a substância teste não foi aplicada em animais adicionais.

Para o animal obteve-se uma leitura média por período avaliado, considerando-se as reações oculares avaliadas (Tabela 2).

Tabela 2. Leitura média obtida nos períodos de 24, 48 e 72 horas.

Tempo de Observação		Animal 1			Média
		24	48	72	
Córnea	densidade	2	2	2	2,00
	área	4	4	4	4,00
Iris	irite	1	1	1	1,00
Conjuntiva	hiperemia	2	2	2	2,00
	quemose	2	3	3	2,67

Tabela 3. Sinais Clínicos.

Número do animal	Sinais Clínicos			
	1 hora	24 horas	48 horas	72 horas
1	0	0	0	18

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. Alopecia periocular;
12. Neovascularização;
13. Mancha;
14. Estafiloma;
15. Ulceração na córnea;
16. Sangue na câmara anterior;
17. Morte;

6. Conclusão

Considerando os resultados obtidos e a metodologia adotada, a substância teste SANIGIZER / KAY ACTIGEL / GEL HIGIENIZADOR, obteve categoria 1, sendo classificada como corrosiva.



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA
www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm

7. Referências Bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Critérios para habilitação de laboratórios segundo os princípios das Boas Práticas de Laboratórios (BPL); Procedimento GGLAS.02/BPL; Habilitação de laboratórios junto à REBLAS.** Rev.00, 1ª Edição. Brasília: ANVISA, 2001. 35p.

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.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório.** Edição em português, Goiânia, GO, 162p., 2003.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guideline for testing of chemicals – Section 4: Health Effects: Acute Ocular Irritation/Corrosion – 405.** Paris: Adopted: 24 April 2002, p.1-14.

Fim do relatório