



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA  
Veja o escopo no site da ANVISA  
[www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico\\_008.htm](http://www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm)

---

**Relatório do estudo:** RE.413.147.12

**Título do estudo:** Teste de Irritação e Corrosão Cutânea Aguda 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 Dermal  
Irritation/Corrosion – 404. Paris: Adopted: 24 April 2002, p.1-13.

**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](http://www.bioagri.com.br); [bioagri@bioagri.com.br](mailto: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](http://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 404 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 Borges 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](http://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 |
| 14/Mai/2012 | Plano de Estudo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 15/Mai/2012                    | 16/Mai/2012                    |
| 04/Mai/2012 | <b>RAS 070/12</b><br>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. | 07/Mai/2012                    | 07/Mai/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 30 de Abril e 04 de Maio de 2012. Esta inspeção está registrada no documento interno **RAS 070/12**. 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 / mmm aaaa



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA  
Veja o escopo no site da ANVISA  
[www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico\\_008.htm](http://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<br>Pesquisador: Alexandre Tiago V. Dorelli<br>Ajudante de laboratório: Luis Fernando Travaoli<br>Pessoal: Leandro de 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 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 a 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.



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA  
[www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico\\_008.htm](http://www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm)

#### **4. Material e métodos**

Este estudo foi conduzido pelo método OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) nº 404, 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 0855, Rev.09.

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

Este estudo foi conduzido em três coelhos brancos, Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), machos, adultos jovens, saudáveis com idade de 16 semanas, pesando entre 2,0 e 3,0 kg, fornecidos por Claudio Rubia Lopes – Piracicaba/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 aclimação. 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 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 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](http://www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm)

#### 4.5. Aplicação da substância teste

O estudo foi inicialmente conduzido com um animal para avaliar qualquer efeito irritante e/ou corrosivo da substância teste para a pele. Foram realizadas três aplicações sequenciais. Na primeira aplicação a bandagem foi removida em três minutos e a pele avaliada, como nenhuma reação severa foi observada, uma segunda aplicação foi feita em outra área teste e a bandagem removida após 1 hora. Como nenhuma reação de corrosão foi observada após a retirada da segunda bandagem, uma terceira aplicação foi conduzida em outra área do dorso e a bandagem removida após 4 horas. Como nenhum efeito corrosivo foi observado no primeiro animal foram utilizados dois animais adicionais.

Com o auxílio 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 cm<sup>2</sup>) 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 auxílio 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

| 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, 2002.

#### 4.8. Eutanásia dos animais

Os animais deste estudo foram eutanasiados em câmara de CO<sub>2</sub>. 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).

Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA  
[www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico\\_008.htm](http://www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm)

**Quadro 2.** Classificação da substância teste.

| Categoria | Classificação  | Critério                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1         | Corrosivo      | Destruição do tecido dérmico;<br>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;<br>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<br>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<br>nº / Sexo | Peso inicial<br>(g) | Reações<br>nos<br>Períodos<br>Avaliados | Após a aplicação |     |     | Após a retirada da bandagem |      |      |      | Média<br>(Período de<br>24 a 72 h) | Média Geral<br>(eritema +<br>edema) |
|---------------------|---------------------|-----------------------------------------|------------------|-----|-----|-----------------------------|------|------|------|------------------------------------|-------------------------------------|
|                     | Peso final<br>(g)   |                                         | 3 min.           | 1 h | 4 h | 1 h                         | 24 h | 48 h | 72 h |                                    |                                     |
| 1 ♂                 | 2560,1              | Eritema                                 | 0                | 0   | 0   | 0                           | 0    | 0    | 0    | 0,00                               | 0,00                                |
|                     | 2648,1              | Edema                                   | 0                | 0   | 0   | 0                           | 0    | 0    | 0    | 0,00                               |                                     |
| 2 ♂                 | 2817,7              | Eritema                                 | Na               | Na  | Na  | 0                           | 0    | 0    | 0    | 0,00                               | 0,00                                |
|                     | 2936,2              | Edema                                   | Na               | Na  | Na  | 0                           | 0    | 0    | 0    | 0,00                               |                                     |
| 3 ♂                 | 2370,5              | Eritema                                 | Na               | Na  | Na  | 0                           | 0    | 0    | 0    | 0,00                               | 0,00                                |
|                     | 2458,1              | Edema                                   | Na               | Na  | Na  | 0                           | 0    | 0    | 0    | 0,00                               |                                     |

Legenda para Reações Cutâneas:

Ver Quadro1

Na= Não aplicável.



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA  
Veja o escopo no site da ANVISA  
[www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico\\_008.htm](http://www.anvisa.gov.br/reblas/bio/anali/analitico_008.htm)

**Tabela 2.** Sinais Clínicos.

| Número do animal | Sinais Clínicos  |        |         |                             |          |          |          |
|------------------|------------------|--------|---------|-----------------------------|----------|----------|----------|
|                  | Após a aplicação |        |         | Após a retirada da bandagem |          |          |          |
|                  | 3 minutos        | 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.

## 6. Conclusão

Considerando os resultados obtidos e a metodologia adotada, a substância teste SANIGIZER / KAY ACTIGEL / GEL HIGIENIZADOR, 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

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.

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