



**PGB**

**Irritação/Corrosão cutânea aguda para coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)**

**Relatório Final**

<b>REFERÊNCIA NORMATIVA:</b>	OECD - Guideline for the Testing of Chemicals. Method 404 "Acute Dermal Irritation / Corrosion" (Adopted: 24 <sup>th</sup> April 2002).
<b>AUTOR (S):</b>	Helena Campos Rolla
<b>DATA FINAL DO ESTUDO:</b>	26/08/2016
<b>LABORATÓRIO EXECUTOR:</b>	NSF Bioensaios - Prestação de Serviços de Análises e Certificação Ltda. Rua Palermo, 257 - Santa Isabel - Viamão - RS - Brasil CEP 94480-775
<b>IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO:</b>	Número do estudo: 3941-ICP-324-16

## DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE BPL

Estudo: Irritação/corrosão cutânea aguda para coelhos – PGB  
Numero do estudo: 3941-ICP-324-16

Declaro que os objetivos estabelecidos no Plano de Estudo foram alcançados e concluídos com êxito; que os dados gerados são válidos; e que o Relatório Final reflete os procedimentos utilizados e os Dados Brutos obtidos no Estudo.

Declaro que o Estudo foi conduzido de acordo com os princípios de Boas Práticas de Laboratório - BPL, normas NIT-DICLA-035 a 041 (Set/2011) baseadas na OECD-Principles on Good Laboratory Practice (1997).

Declaro que os princípios BPL foram plenamente atendidos.

Viamão, 26 / 08 / 2016 .

Helena Campos Rolla  
Diretora de Estudo  
Rua Palermo, 257 - Viamão - RS - Brasil

## DECLARAÇÃO DE GARANTIA DA QUALIDADE

Estudo: Irritação / corrosão cutânea aguda para coelhos – PGB  
Numero do estudo: 3941-ICP-324-16

Declaro que o Relatório Final foi revisado e reflete os Dados Brutos.

Declaro que a Diretora de Estudo assinou a declaração de que o Estudo foi conduzido segundo os princípios BPL em 26/08/2016.

Declaro que foram realizadas inspeções, conforme especificado na tabela abaixo, não sendo observados desvios ou não conformidades que pudessem afetar a qualidade dos resultados obtidos.

Objeto da Inspeção	Data da Inspeção	Data de relato ao DE	Data de relato à GIT
Plano de Estudo	08/07/16	08/07/16	08/07/16
<i>Fases do estudo *</i>			
Sistema teste	02/08 e 24/08/14	26/08/16	26/08/16
Preparo das soluções	13/08/14	26/08/16	26/08/16
Aplicação da substância teste	13/08/16	26/08/16	26/08/16
Condições de exposição	13 e 18/08/16	26/08/16	26/08/16
Respostas do teste	03, 04 e 18/08/16	26/08/16	26/08/16
Dados Brutos	26/08/16	26/08/16	26/08/16
Relatório Final	26/08/16	26/08/16	26/08/16

DE: Diretor de Estudo; GIT: Gerência da Instalação de Teste.

Viamão, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ .

Rodrigo Garcia dos Santos  
Setor de Garantia da Qualidade  
Rua Palermo, 257 - Viamão - RS - Brasil

## INFORMAÇÕES GERAIS

### Colaboradores

Colaboradores deste estudo e suas atribuições:

Nome	Título
Helena Campos Rolla	Diretora de estudo
Débora Geremias Ferreira	Técnica em Química
Celeste Elaine da Cunha	Auxiliar de Laboratório
Alexandre Brandelli	Gerente da Instalação de Teste
Aline Garcia dos Santos	Gerente da Qualidade

### Datas do estudo

Início do estudo:	05/07/2016
Início do ensaio:	02/08/2016
Termino do ensaio:	24/08/2016
Término do estudo:	26/08/2016

### Desvios da norma

Nenhum.

### Arquivamento

O Plano de Estudo, os Dados Brutos e o Relatório Final são mantidos arquivados por um período mínimo de cinco anos e a substância teste por um período mínimo de 60 dias após o encerramento dos Estudos nas dependências da NSF Bioensaios - Prestação de Serviços de Análises e Certificação Ltda.

### Número de referência da substância teste no laboratório executor

Número da substância teste:	3941
Lote da substância teste:	001BIO

### Bem estar animal

Os animais foram mantidos seguindo os preceitos básicos de ética e bem estar animal (Princípios Éticos da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório – COBEA); Lei nº 11.794 de 08/10/2008, do Decreto nº 6.899 de 15/07/2009 e da Resolução nº 879 de 15/02/2008 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV).

O protocolo experimental para realização deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de Animais CEUA – NSF BIOENSAIOS, parecer BO-207/2016.

## TABELA DE CONTEÚDOS

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE BPL	2
DECLARAÇÃO DE GARANTIA DA QUALIDADE	3
INFORMAÇÕES GERAIS	4
TABELA DE CONTEÚDOS	5
1.0 SUMÁRIO EXECUTIVO	6
2.0 INTRODUÇÃO	7
3.0 MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Substância de teste	7
3.2 Metodologia	7
3.3 Princípio do teste in vivo	7
3.4 Sistema teste	8
3.5 Condições ambientais e alimentação	8
3.6 Dosagem e aplicação da substância teste	8
3.7 Medições durante o ensaio	8
3.8 Avaliação Clínica	8
3.9 Critérios de avaliação	8
4.0 RESULTADOS	8
5.0 CONCLUSÃO	9
6.0 ARQUIVAMENTO	9
7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
SEÇÃO TABELAS	10
TABELA 1: Massa corporal dos animais durante o ensaio.	10
TABELA 2: Valores atribuídos aos efeitos de irritação/corrosão dérmica aguda observados na pele dos animais expostos.	10
SEÇÃO ANEXOS	11
ANEXO I: Classificação das respostas dérmicas (escala Draize)	11
ANEXO II: Certificado de Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório	12

## IRRITAÇÃO/CORROSÃO CUTÂNEA AGUDA PARA COELHOS PGB

### 1.0 SUMÁRIO EXECUTIVO

Um estudo *in vivo* com coelhos albinos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) foi conduzido para determinar o potencial da substância teste PGB em causar efeitos lesivos, reversíveis ou não sobre a pele dos animais. O teste foi realizado com três coelhos adultos machos, sob condições artificiais controladas, com fotoperíodo de 12 horas claro/12 horas escuro. Os animais foram expostos durante 4 horas consecutivas a uma única dose de substância teste, aplicada sobre a área de pele depilada. O resultado final foi baseado no grau de irritação cutânea ocorrida nos animais, durante os sete dias de observação. Foram avaliadas as alterações ocorridas na pele, caracterizadas por eritema e edema, assim como os parâmetros de massa corporal no primeiro e no último dia do ensaio.

Os resultados obtidos mostraram que a substância teste PGB provocou eritema de grau 1 e edema muito leve, quando aplicada pura, na pele de coelhos albinos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), reversíveis em 7 dias. Considerando os valores atribuídos aos efeitos de irritação/corrosão dérmica aguda observados na pele dos animais expostos e o tempo de reversibilidade dos efeitos observados, a substância teste PGB foi considerada não irritante para coelhos.

### SUMMARY

An *in vivo* study with albino rabbits New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) was conducted to determine the potential of the test substance PGB in causing harmful effects, reversible or not on the skin of animals. The test was conducted with three adult males rabbits under controlled artificial conditions, with a photoperiod of 12 hours light/12hours dark. The animals were exposed for 4 consecutive hours in a single dose of test substance, applied to the shaved skin area. The end result was based on the degree of skin irritation in animals occurred during the seven days of observation.

It was evaluated the alterations occurred in the skin characterized by erythema and oedema, as well as the parameters of body mass in the first and last day of the test.

The results showed that the test substance PGB caused erythema degree 1 and edema very light, when applied pure on the skin of albino rabbits of the New Zealand race (*Oryctolagus cuniculus*), reversible within 7 days. Considering the values attributed to the effects of irritation / corrosion acute dermal observed on the skin of exposed animals and the time reversibility of the effects observed, the test substance PGB was considered non-irritating to rabbits.

## Irritação/corrosão cutânea aguda para coelhos PGB

### 2.0 INTRODUÇÃO

O objetivo do ensaio de irritação/corrosão cutânea é avaliar os efeitos irritantes e/ou corrosivos provocados pela exposição da substância teste sobre a pele de coelhos albinos.

### 3.0 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Substância de teste

Nome da substância teste	:	PGB <sup>(1)</sup>
Recebido em	:	27/06/2016
Identificação Bioensaios	:	3941
Nome comum do i.a.	:	D limoneno Páprica <sup>(1)</sup>
Nome químico do i.a. (IUPAC)	:	Terpeno Cítrico de Laranja Páprika Oleoresin <sup>(1)</sup>
CAS do i.a.	:	5989-27-5 84625-29-6 <sup>(1)</sup>
Lote da substância teste	:	001BIO <sup>(1)</sup>
Fabricação da substância teste	:	01/06/2016 <sup>(1)</sup>
Validade da substância teste	:	01/12/2017 <sup>(1)</sup>
Estabilidade	:	Estável por um ano e seis meses à temperatura ambiente
Estado físico	:	Líquido <sup>(1)</sup>
Teor de i.a. declarado (Patrocinador)	:	10 g <sup>(1)</sup>
Homogeneidade	:	Visualmente homogênea
Data de abertura da embalagem	:	02/08/2016

(1) Fonte: Informações fornecidas pelo patrocinador

#### 3.2 Metodologia

O estudo de irritação/corrosão cutânea aguda na pele de coelhos foi conduzido de acordo com OECD – Guideline for the Testing of Chemicals. Method 404 “Acute Dermal Irritation/Corrosion” (Adopted: 24<sup>th</sup> April 2002).

#### 3.3 Princípio do teste *in vivo*

Esta norma aplica-se preferencialmente a coelhos albinos. A substância teste é aplicada em uma única dose em uma pequena área da pele (aproximadamente 6 cm<sup>2</sup>) do animal teste, áreas de pele não tratadas do animal teste são utilizadas como controle. O período de exposição é de 4 horas. Resíduos da substância teste são então removidos. A dose é de 0,5 mL aplicado na área da pele depilada. O método consiste em dois testes: o teste inicial e o ensaio de confirmação (usado somente se um efeito corrosivo não for observado no ensaio inicial).

Todos os animais devem ser examinados para sintomas de eritema e edema durante o período do estudo e os resultados devem ser avaliados em conjunto com a natureza e a gravidade das lesões. A duração do estudo deve ser suficiente para avaliar a reversibilidade ou não dos efeitos observados, não sendo inferior a 72 horas, podendo se entender por 14 dias. Quando

as respostas persistirem até ao fim do período de observação de 14 dias, a substância teste é considerada um agente irritante.

### **3.4 Sistema teste**

Foram utilizados três coelhos albinos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), adultos jovens, nascidos entre 07 a 10 de fevereiro de 2016. Os três coelhos eram machos, sem história clínica prévia e sem lesões na pele e peso entre 2,885 e 3,650 kilogramas. Os animais foram obtidos do criador Irany Solla Zolin, Eldorado do Sul, RS.

Os animais foram aclimatados às condições do laboratório pelo menos 5 dias antes do início do teste. Aproximadamente vinte e quatro horas antes do teste os animais foram tricotomizados (aproximadamente 6 cm<sup>2</sup>) na área dorsal lateral do tronco em duas áreas de igual tamanho. Os animais foram designados aleatoriamente por meio de sorteio.

### **3.5 Condições ambientais e alimentação**

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais de arame galvanizado identificadas por crachá. O estudo foi conduzido em sala de experimentação com temperatura entre 20,6°C e 23,5°C e umidade relativa entre 43,0% e 46,0% e fotoperíodo de 12 horas claro/12 horas escuro.

Os animais foram alimentados com ração comercial da marca Piá e água filtrada (Corsan) *ad libitum* durante todos os períodos do ensaio. Detalhes da qualidade dos alimentos e da água são rotineiramente registrados nos arquivos de dados brutos do laboratório.

### **3.6 Dosagem e aplicação da substancia teste**

A dose utilizada foi 0,5 mL da substância teste por animal. A substância teste foi aplicada na área tricotomizada da pele e coberta com um curativo semi-oclusivo (gaze), fixada com uma fita adesiva não irritante (micropore). A outra área de pele tricotomizada não exposta, no flanco oposto serviu como controle.

A determinação do pH foi realizada em solução a 1% na temperatura de 25,0 ± 1 °C.

Substâncias com pH muito ácido ou muito alcalino (pH ≤ 2,0 e pH ≥ 11,5) podem ter severos efeitos locais.

### **3.7 Medições durante o ensaio**

Os animais foram pesados individualmente, no primeiro dia e no final do ensaio.

### **3.8 Avaliação Clínica**

Os animais foram examinados no local da aplicação uma, 24, 48 e 72 horas após o período de exposição, para avaliar a presença de sinais de eritema e edema.

### **3.9 Critérios de avaliação**

Os escores de irritação cutânea são avaliados em conjunto com a natureza e severidade das lesões e o tempo de reversibilidade delas.

A reversibilidade das lesões cutâneas é considerada na avaliação de respostas irritantes.

Uma substância é considerada irritante quando respostas como: alopecia (área limitada), hiperqueratose, hiperplasia e descamação persistirem no final do 14º dia do período de observação.

A avaliação é realizada a partir dos valores atribuídos para as alterações de eritema e edema observadas.

Os valores atribuídos (escores) são apresentados no Anexo I da seção Anexos.



#### **4.0 RESULTADOS**

O estudo foi realizado entre os dias 02 a 24 de agosto de 2016.

O teste *in vivo* foi realizado inicialmente utilizando um animal (teste inicial – animal 1). Outros dois animais foram testados somente após as avaliações das reações cutâneas do primeiro animal (teste confirmatório – animal 2 e 3).

Os animais foram expostos a substância teste em uma única dose por 4 horas consecutivas. Ao final desse período a substância teste residual foi removida usando solução fisiológica (solução estéril de cloreto de sódio 0,9%) através de esguicho suave, para evitar qualquer fricção na superfície.

Todos os animais foram examinados clinicamente por 7 dias para avaliar a presença de sinais de eritema e edema, e as respostas registradas durante o período de observação foram expressas na forma de escores e são apresentadas na Tabela 2 da Seção Tabelas.

Cada animal foi avaliado separadamente tendo seus resultados registrados individualmente aos 60 minutos, 24, 48, 72 horas e 7 dias após a aplicação da substância teste.

Os resultados foram baseados nas reações cutâneas observadas na pele exposta quando comparadas ao controle (não tratada) localizada no flanco oposto.

A graduação da intensidade da reação cutânea foi baseada no método de Draize, como descrito no ANEXO I.

A substância teste apresentou o pH de 6,0.

O coelho 1 utilizado no teste inicial e os dois coelhos utilizados no teste confirmatório apresentaram eritema muito leve de grau 1 durante 72 horas após a remoção do curativo, estas alterações regrediram antes de sete dias.

Os três coelhos apresentaram também edema muito leve no local da aplicação da substância teste uma hora após a remoção do curativo (primeira observação), que regrediram antes das primeiras 24 horas nos coelhos 2 e 3. No coelho 1 regrediu somente em 72 horas de observação.

As avaliações registradas durante o período de observação são apresentadas na Tabela 2 da Seção Tabelas.

Não foram observadas alterações macroscópicas nos animais durante o período de estudo.

Os três animais apresentaram ganho de peso corporal durante a realização do estudo.

As massas corporais dos animais no primeiro e último dia de teste são apresentadas na Tabela 1 da Seção Tabelas.

#### **5.0 CONCLUSÃO**

A substância teste PGB provocou eritema de grau 1 e edema muito leve, quando aplicada pura, na pele de coelhos albinos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), reversíveis em 7 dias. Considerando os valores atribuídos aos efeitos de irritação/corrosão dérmica aguda observados na pele dos animais expostos e o tempo de reversibilidade dos efeitos observados, a substância teste PGB foi considerada não irritante para coelhos.

#### **6.0 ARQUIVAMENTO**

O plano de estudo, os dados brutos e o relatório final serão mantidos arquivados por um período mínimo de cinco anos e a substância teste por um período mínimo de 60 dias após o encerramento dos Estudos nas dependências da NSF Bioensaios - Prestação de Serviços de Análises e Certificação Ltda.

## 7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

OECD – Guideline for the Testing of Chemicals. Method 404 “Acute Dermal Irritation/Corrosion” (Adopted: 24<sup>th</sup> April 2002).

Viamão, 26 / 08 / 2016

Helena Campos Rolla  
Diretora de Estudos  
Rua Palermo, 257 - Viamão - RS - Brasil

## SEÇÃO TABELAS

**TABELA 1: Massa corporal dos animais durante o ensaio.**

Animal	Sexo	Peso corporal inicial (kg)	Peso corporal final (kg)
1	Macho	2,990	3,130
2	Macho	2,885	3,120
3	Macho	3,650	3,712
Média	---	3,175	3,321

**TABELA 2: Valores atribuídos aos efeitos de irritação/corrosão dérmica aguda observados na pele dos animais expostos.**

Período de Observação	1 h	24 h	48 h	72 h	7 dias
<b>Animal 1</b>	<b>02/08/16</b>	<b>03/08/16</b>	<b>04/08/16</b>	<b>05/08/16</b>	<b>09/08/16</b>
Eritema	1	1	1	1	0
Edema	1	1	1	0	0
<b>Animal 2</b>	<b>17/08/16</b>	<b>18/08/16</b>	<b>19/08/16</b>	<b>20/08/16</b>	<b>24/08/16</b>
Eritema	1	1	1	1	0
Edema	1	0	0	0	0
<b>Animal 3</b>	<b>17/08/16</b>	<b>18/08/16</b>	<b>19/08/16</b>	<b>20/08/16</b>	<b>24/08/16</b>
Eritema	1	1	1	1	0
Edema	1	0	0	0	0

## SEÇÃO ANEXOS

### ANEXO I

#### Classificação das respostas dérmicas (escala Draize).

<b>Formação de eritema e escara</b>	<b>Grau Atribuído</b>
Sem eritema	0
Eritema muito leve (pouco perceptível)	1
Eritema bem definido	2
Eritema moderado a severo	3
Eritema severo (vermelhidão) a formação de escara	4
<b>Formação de Edema</b>	<b>Grau Atribuído</b>
Sem edema	0
Edema muito leve (pouco perceptível)	1
Edema leve (bordas bem definidas)	2
Edema moderado (aumento aproximado de 1 mm)	3
Edema severo (aumento superior a 1 mm e espalhado ao redor da área de exposição)	4

**ANEXO II**  
**Certificado de Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório**

República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior  
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro  
**Coordenação Geral de Acreditação**  
**Autoridade Brasileira de Monitoramento da Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório-BPL da OCDE**



*Certificado de Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório*

Reconhecimento nº BPL 0006

Reconhecimento inicial: 14-5-2001

**Laboratório de Ensaios em Agrotóxicos e Produtos Químicos - BPL**  
NSF Bioensaios – Prestação de Serviços de Análises e Certificação Ltda.  
Rua Palermo, 257 – Viamão - RS

*A Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro concede à instalação de teste acima identificada o reconhecimento da conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório da OCDE para a condução de estudos não-clínicos de segurança à saúde e ao meio ambiente, incluindo no Programa Brasileiro de Monitoramento BPL, com a seguinte definição de escopo:*

Áreas de Especialidades de Estudos	Categorias de Itens de Teste
Testes Físico-químicos; Estudos Toxicológicos; Estudos de Mutagenicidade; Estudos Ecotoxicológicos com Organismos Aquáticos e Terrestres; Estudos sobre o Comportamento em Água, Solo, Ar e Bioacumulação; Estudos de Resíduos; Estudos de Efeitos em Mesocosmos e Ecossistemas Naturais; Química Analítica e Clínica; Avaliação da Atividade Bactericida em Desinfetantes Através do Método de Diluição de Uso; Avaliação da Atividade Fungicida em Desinfetantes; Pesquisa e Identificação de Patógenos; Pureza da Cultura Estoque; Estabilidade de Estocagem – Agente Microbiológico de Controle; Estabilidade à Luz Solar, pH 5, 7, 9; Ar, Temperatura, Metais e seus Ions – Agente Microbiológico de Controle.	- Agrotóxicos, Seus Componentes e Afins; - Produtos Farmacêuticos; - Cosméticos; - Preservativo de Madeira; - Produtos Veterinários; - Saneantes; - Produtos Químicos Industriais; - Remediadores.

**Nota:** As categorias de itens de teste "agrotóxicos, seus componentes e afins" e "produtos químicos industriais" estão contemplados pela adesão plena do Brasil, através da Coordenação Geral de Acreditação-Cgcre do Inmetro, aos Atos da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico - OCDE relacionados à Aceitação Mútua de Dados (MAD) de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório-BPL.

Emissão: 21-07-2015

Validade: 14-5-2017

  
**Guilherme Andrade Campos Pedrosa**  
**Coordenador Geral de Acreditação Substituto**

A situação atual do reconhecimento deve ser verificada no endereço eletrônico  
[http://www.inmetro.gov.br/monitoramento\\_BPL/certificados/](http://www.inmetro.gov.br/monitoramento_BPL/certificados/)