

Relatório do estudo: RE.413.0716.09

Título do estudo: Avaliação da Irritação Cutânea Primária da Substância teste VANTOCIL DC em Coelhos

Metodologia: INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Manual de qualidade: Ensaio de irritação cutânea primária.** Rio de Janeiro: Ministério da Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, nº 65.3330.003, revisão nº 06, 02 de Maio de 2007, 14p.

Diretora de estudo: Kátia Fernanda Claudino

Laboratório Executor: **BIOAGRI Laboratórios Ltda.**
Rod. SP 127, Km 24, Fone: (19) 3429-7700 – Fax: (19) 3429-7723
Cx. Postal: 573 – CEP: 13412-000
Piracicaba – S.P. – Brasil
www.bioagri.com.br; bioagri@bioagri.com.br

Patrocinador: **ARCH QUÍMICA BRASIL LTDA**
Avenida Brasília, 1500 bairro: Buru CEP: 13327-901
Fone: (11) 4028-8027 Fax: (11) 4028-8109
Salto – SP – Brasil

Conclusão do Relatório: 06/Nov/2009





ANALI 008

Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA

www.anvisa.gov.br/reblas/bio/analitico/analitico_008.htm

Declaração de acompanhamento do estudo

O estudo descrito neste Relatório Final foi executado sob nossa supervisão, de acordo com o Plano de Estudo e procedimentos descritos no método INCQS (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde) nº 65.3330.003 (2007) e em conformidade com os critérios para a habilitação de laboratórios segundo os princípios das Boas Práticas de Laboratórios (BPL) GGLAS 02/BPL (2001).

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

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

Kátia F. Claudino

Kátia Fernanda Claudino
Diretora de Estudo
Fone: (19) 3429-7760

06 / Nov / 2009
dd mmm aaaa

Márcio Adriani Gava
Diretor Técnico
Fone: (19) 3429-7727

06 NOV 2009

dd mmm aaaa



Declaração da Garantia da Qualidade

Este estudo foi conduzido segundo os princípios das Boas Práticas de Laboratórios (BPL) e em conformidade com os critérios para a habilitação de laboratórios GGLAS 02/BPL (2001).

Este relatório foi revisado pela Garantia da Qualidade – BIOAGRI. As datas e fases de auditoria no estudo estão relacionadas na tabela abaixo:

Auditoria		Data das informações relatadas	
Data	Fase	Diretor de Estudo	*Diretor Técnico
09/Out/2009	Plano de estudo	09/Out/2009	09/Out/2009
05/Nov/2009	Relatório do estudo	06/Nov/2009	06/Nov/2009

A auditoria de processo mais recente da fase laboratorial desta classe de estudo foi realizada em 21/Jul/2009. Esta auditoria está registrada no documento interno RAS 088/09.

Os resultados e observações apresentados neste relatório final são descrições precisas dos dados brutos gerados durante a condução do estudo.




 Andreza Pampolini de Souza
 Garantia da Qualidade
 Fone: (19) 3429-7733

06 / Nov / 2009
 dd mmm aaaa

1. Informações

1.1. Do estudo

Início do estudo:	08/10/2009
Início da fase experimental:	12/10/2009
Final da fase experimental:	16/10/2009
Conclusão do relatório:	06/11/2009
Número da proposta:	50905
Corpo técnico:	Diretora de Estudo: Kátia Fernanda Claudino Pesquisadora: Roseane P. B. Bernardini Técnica de laboratório: Daniela Ferraz Menezes Ajudante de laboratório: Pedro Goiara



1.2. Da substância teste

Substância teste:	VANTOCIL DC
Recebida em:	16/09/2009
Lote:	8BR340DESC
Data de fabricação:	05/12/2008
Data de validade:	05/12/2010
Código da Bioagri:	DOM-01770/09
Aspecto físico:	Líquido
Composição declarada (%) (patrocinador):	CONFIDENCIAL
Concentração declarada do ativo (%) (patrocinador):	
Concentração analisada do ativo (%) (Bioagri):	
Certificado de Análise:	BA 0193/09 e BA 0114.0194/09
Substância teste enviada por:	ARCH QUÍMICA BRASIL LTDA

2. Objetivo

O objetivo é avaliar o potencial de irritação e/ou corrosão da substância teste VANTOCIL DC quando administrada pela via cutânea em coelhos.

3. Definições

Irritação cutânea: é a produção de lesões reversíveis na pele após a aplicação da substância teste na superfície.

Corrosão cutânea: é a produção de lesões irreversíveis na pele após a aplicação da substância teste na superfície.

Substância 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 INCQS N° 65.3330.003 (2007) (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde), 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 à REBLAS, segundo Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2001) e Procedimento Operacional Padrão da Bioagri Laboratórios Ltda., POP-M 915 (Irritação Cutânea Primária (INCQS), Rev.10).



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

4.1. Seleção do sistema-teste

Este estudo foi conduzido em seis coelhos brancos, Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), 06 fêmeas, nulpáras e não prenhas, adultos jovens, saudáveis com idade de 14 semanas, pesando entre 2,0 e 3,0 kg, fornecidos por Claudio 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 dérmica 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, duas áreas com cerca de 6,25 cm², 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, sendo utilizados no teste somente animais com a pele saudável.

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: Purina Nutricoeilhos; Marca: Agribands Purina do Brasil 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 quanto à 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 à qualidade microbiológica; a mesma atende aos padrões de potabilidade.

4.4. Preparo da substância teste

A substância teste foi aplicada pura.

4.5. Aplicação da substância teste

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 6,25 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 auxílio de água purificada. O flanco esquerdo, que permaneceu sem o tratamento foi utilizado como controle.





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

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 observação

Todos os animais foram examinados no período de 24 e 72 horas após a aplicação da substância teste, em relação a reações dérmicas de eritema e edema, sendo essas reações registradas. O edema foi medido com o auxílio de um paquímetro considerando-se a pele dobrada longitudinalmente. A diferença entre a medida da área teste e da área controle é a medida do edema que foi graduado.

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	Pele normal: geralmente de cor branca, podendo apresentar-se rósea	0
	Eritema leve: pele ligeiramente avermelhada, onde se percebe uma tonalidade diferente da área controle	1
	Eritema bem definido: a pele apresenta-se vermelha, geralmente em toda a área-teste	2
	Eritema moderado: a pele apresenta-se com vermelhidão intensa e difusa	3
	Eritema severo: a pele apresenta-se vermelha escura, com leve formação de escaras (injúrias em profundidade)	4
Formação de edema	Sintomas	Valor
	Nenhum edema: o valor do edema se encontra entre 0 e 0,24 mm	0
	Edema muito leve (pouco perceptível): o valor do edema deve estar compreendido entre 0,25 e 0,49 mm	1
	Edema leve: áreas de bordas definidas com aumento perceptível. O valor do edema deve estar compreendido entre 0,5 e 0,74 mm	2
	Edema moderado (bastante perceptível): o valor do edema deve estar compreendido entre 0,75 e 1mm	3
	Edema severo: o valor do edema é maior do que 1 milímetro, podendo às vezes ser maior do que a área de exposição	4

Fonte: INCQS (2007)

4.8. Classificação da substância teste

O índice de irritação cutânea primária da substância teste foi estabelecido através da obtenção da média aritmética das leituras efetuadas nos períodos de 24 e 72 horas, posteriormente foi obtida a somatória das médias aritméticas (4 médias) e dividiu-se esse valor por dois. A classificação final foi feita de acordo com o critério estabelecido por INCQS (2007), descrito no Quadro 2.

Quadro 2. Classificação da substância teste.

Valor do Índice	Classificação
0,00 - 0,99	Não Irritante
1,00 - 1,99	Ligeiramente Irritante
2,00 - 4,99	Moderadamente Irritante
5,00 - 8,00	Severamente Irritante

Fonte: INCQS (2007)





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

5. Resultados

Foram observadas as seguintes reações dérmicas nos animais: eritema nos seis animais nas avaliações de 24 e 72 horas. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 1.

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

Animal n°	Sexo	Peso (g)		Leitura em 24 horas		Leitura em 72 horas	
		Inicial	Final	Edema	Eritema	Edema	Eritema
1	♀	2012,6	2210,3	0	1	0	2
2	♀	2698,3	2715,3	0	1	0	2
3	♀	2145,2	2308,9	0	2	0	2
4	♀	2039,8	2216,7	0	1	0	2
5	♀	2167,3	2312,5	0	1	0	2
6	♀	2033,5	2208,1	0	1	0	2
Média				0,00	1,17	0,00	2,00
Soma (quatro médias)				3,17			
Índice de irritação cutânea primária (soma/2)				1,58			

6. Conclusão

Considerando os resultados obtidos e a metodologia adotada, a substância teste VANTOCIL DC, apresentou índice de irritação cutânea primária igual 1,58, sendo classificada como um produto ligeiramente irritante.

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.

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.

Fim do relatório

