

Título do Estudo

Teste de Toxicidade Inalatória Aguda com **WASTEC OC 915** em Ratos (*Rattus norvegicus*)

Pesquisador Responsável

Mateus Wrubleski Costa, D.V.M., B.Sc.

Estudo Não BPL Concluído em

17/Fev/2008

Laboratório Executor

BIOAGRI Laboratórios

Fazenda Lagoa Bonita, Chácara 13

Caixa Postal: 08287 - Planaltina/DF - 73310-970 - Brasil

Tel: (61) 3488-1018 / Fax: (61) 3488-3550

e-mail: bioagri@bioagri.com.br

www.bioagri.com.br

Patrocinador

Wastec Brasil Comércio de Produtos Químicos Ltda. – EPP.

Rua Marechal Deodoro, nº900

São Caetano do Sul - SP

Tel: (11) 4229-0100 / Fax (11) 4229-2447

Relatório Final

DOM-02782/08

Declaração

Os resultados aqui representados são uma representação fiel dos dados obtidos durante a condução do estudo.

Mateus W. Costa

Mateus Wrubleski Costa, D.V.M., B.Sc.

Pesquisador Responsável

17 / fev / 2009
dd mmm yyyy

Milton A. T. Vargas

Milton A. T. Vargas, Microbiologista, PhD.
Gerente Operacional

17 / fev / 2009
dd mmm yyyy

Índice

	Página #
1.Objetivo.....	5
2.Materiais e Métodos.....	5
2.1.Informações da Substância-Teste.....	5
2.2.Preparo da Substância-Teste.....	5
2.3.Sistema-Teste.....	5
2.3.1.Alojamento Animal.....	6
2.3.2.Declaração de Conformidade com o Bem-Estar Animal.....	6
2.4.Delineamento Experimental e Procedimentos.....	7
3.Resultados.....	8
3.1.Mortalidade.....	8
3.2.Sinai s Clínicos e Hora de Óbito.....	8
3.3.Necropsia.....	8
3.4.Histopatologia.....	8
3.5.Peso Corporal.....	9
4.Conclusão.....	9
5.Referências Bibliográficas.....	10
6.Apêndice.....	11
6.1.Sinai s Clínicos Individuais.....	11
6.2.Achados Macroscópicos Individuais.....	12
6.3.Pesos corporais individuais e idade.....	14

Índice de Tabelas

Tabela 1. Peso corporal médio (g), desvio padrão (g), e ganho (%) por sexo e dia de pesagem após a exposição aerógena ao WASTEC OC 915	9
Tabela 2. Sinais clínicos e hora do óbito observados após exposição inalatória ao WASTEC OC 915 (machos).	11
Tabela 3. Sinais clínicos e hora do óbito observados após exposição inalatória ao WASTEC OC 915 (fêmeas).	11
Tabela 4. Achados macroscópicos após a exposição inalatória ao WASTEC OC 915 (machos).	12
Tabela 5. Achados macroscópicos após a exposição inalatória ao WASTEC OC 915 (fêmeas).	13
Tabela 6. Pesos corporais individuais (g) e idade (semanas) dos ratos expostos (machos).	14
Tabela 7. Pesos corporais individuais (g) e idade (semanas) dos ratos expostos (fêmeas).	14

1. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade inalatória do **WASTEC OC 915**, a qual é a relação entre a exposição, pela via inalatória, à substância-teste aerossolizada na concentração determinada e os efeitos adversos relacionados com a exposição por um curto período de tempo. Também proporciona informação sobre os mecanismos de toxicidade e os perigos à saúde após a inalação aguda dessa substância.

2. Materiais e Métodos

2.1. Informações da Substância-Teste

1. Patrocinador	Wastec Brasil Comércio de Produtos Químicos Ltda. - EPP
2. Substância-teste	Wastec OC 915
3. Lote nº	81101
4. Código BIOAGRI	DOM - 02782
5. Estado Físico	Líquido

Referências:

⁽¹⁾TOMLIN, C. D. S. 2006-2007. The e-Pesticide Manual (Fourteenth Edition) Version 4.0. Software engineered by P.J. Mann – Web Desing & Consultancy. BCPC (British Crop Protection Council) (ISBN 1 901396 42 8).

2.2. Preparo da Substância-Teste

A substância-teste foi aerossolizada não diluída.

2.3. Sistema-Teste

1. **Espécie:** *Rattus norvegicus*;
2. **Linhagem:** Wistar-Hannover;
3. **Justificativa para a escolha do sistema-teste:** O rato é o modelo recomendado pelas agências regulamentadoras para a avaliação da toxicidade inalatória aguda;
4. **Fonte:** Jovens adultos saudáveis foram fornecidos pelo Biotério de Criação da BIOAGRI (DF);
5. **Peso corporal** **Peso corporal:** Foi aferido no dia da exposição, no primeiro, no terceiro, no sétimo e no décimo quarto dia após a exposição. Nenhum rato pesou menos ou excedeu a variação

aceitável de 20% da média de peso corporal por sexo no grupo no dia da exposição (Tabela 6 e 7, página 15);

6. **Idade:** Os machos tinham oito e as fêmeas tinham onze semanas de idade no dia da exposição;
7. **Sexo:** Igual número de machos e fêmeas (nulíparas e não prenhes) foi utilizado;
8. **Número:** Um grupo de dez ratos (5/sexo) foi usado. Dois ratos adicionais (1/sexo) foram aclimatados;
9. **Identificação:** Cada rato selecionado foi identificado exclusivamente com um número marcado na cauda e após a randomização uma marca adicional foi feita com solução de ácido pícrico a 2%.
10. **Caixas:** Cartões de identificação das caixas foram preparados identificando o estudo de forma detalhada;
11. **Aclimação:** Ratos clinicamente saudáveis foram aclimatados ao alojamento animal por oito dias antes da exposição. Antes da aplicação, os animais selecionados foram aclimatados ao tubo de exposição nose-only por 1 hora. Todos os animais aparentaram estar aclimatados;

2.3.1. Alojamento Animal

1. **Alojamento:** Foram usadas caixas de polipropileno de 41 x 34 x 16 cm com maravalha autoclavada e grades metálicas contendo cinco ratos de cada sexo por caixa durante a fase experimental;
2. **Condições ambientais:** Durante a aclimação e o período de observação foram automaticamente mantidos em temperaturas de 19 a 25°C, umidade relativa de 30 a 70 %, 10 a 20 trocas de ar na sala por hora e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro;
3. **Dieta e água:** Ração comercial peletizada para ratos - *Nuvilab CRI*, Nuvital Nutrientes Ltda. – e água potável filtrada foi fornecida *ad libitum*.

2.3.2. Declaração de Conformidade com o Bem-Estar Animal

Este estudo foi conduzido em conformidade com as leis aplicáveis ao bem-estar animal, cuidado e uso de animais de laboratório (Lei Federal Brasileira Nº 6.638 de 08 de Maio de 1979) [1]. Sempre que possível, os procedimentos foram delineados visando evitar ou minimizar o desconforto, estresse ou dor aos animais. As medidas de cuidado de animais foram realizadas de acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* [4].

2.4. Delineamento Experimental e Procedimentos

1. **Veículo:** A substância-teste foi aerossolizada não diluída;
2. **Via de aplicação:** Inalatória;
3. **Justificativa da via de exposição:** A exposição inalatória é uma via potencial de exposição humana e a sua avaliação é recomendada pelas agências regulamentadoras;
4. **Frequência e duração da exposição:** Uma única exposição durante um período de 4 horas;
5. **Equipamento de exposição:** Foi usada uma câmara “Jaeger Inhalation Chamber, Mark II” com um sistema nebulizador de colisão;
6. **Princípio de exposição:** Os ratos foram expostos à substância-teste em tubos “nose-only” em plexiglass, aplicando o princípio de exposição de fluxo direto de ar a 8 L/min;
7. **Justificativa do princípio de exposição:** Tubos “nose-only” são escolhidos por se acomodarem ao tamanho dos ratos e por permitir que as caudas permaneçam para fora, evitando assim a hipertermia induzida pela contenção. Este princípio de exposição é preferível comparado ao princípio de exposição “whole-body”, por razões científicas e técnicas - rápida obtenção de concentrações estáveis, menor consumo de substância-teste e diminuição da entrada por vias não-inalatórias;
8. **Condições da exposição:** Foram mantidos em uma sala com temperatura de 20,7 a 22,8°C e umidade relativa de 60 a 62%;
9. **Concentrações de exposição:** Uma vez que morte relacionada ao produto não foi observada na concentração nominal máxima alcançável testada (24,479 mg/L), outras concentrações não foram testadas para se determinar a CL₅₀;
10. **Exames clínicos:** Imediatamente após o período de exposição, os ratos foram retirados da câmara, suas cabeças cuidadosamente limpas de qualquer material e levados para o alojamento animal. Durante o período de observação de quatorze dias, exames clínicos foram realizados imediatamente após a exposição e diariamente (exceto domingos). Todas as alterações comportamentais e clínicas, se presentes, foram registradas sistemática e individualmente para cada animal. Atenção especial foi dada para a observação de possíveis órgãos-alvo (trato respiratório);
11. **Eutanásia:** Todos os ratos sobreviventes foram eutanasiados em câmara de dióxido de carbono e necropsiados;
12. **Necropsia:** A presença ou ausência de achados macroscópicos observados durante a necropsia foram registrados individualmente para cada animal exposto;
13. **Histopatologia:** O exame microscópico dos órgãos-alvo não foi considerado necessário.

3. Resultados

3.1. Mortalidade

Não foi observado óbito relacionado à substância-teste.

3.2. Sinais Clínicos e Hora de Óbito

Nenhum sinal clínico relacionado à substância-teste foi registrado durante os 14 dias de observação. A ausência de sinais clínicos individuais está exposta nas Tabelas 2 e 3 (Página 12).

3.3. Necropsia

Nenhum achado macroscópico à necropsia foi observado nesse estudo. A ausência de achados macroscópicos individuais está disposta nas Tabelas 4 e 5 (páginas 13 e 14, respectivamente).

3.4. Histopatologia

O exame microscópico dos órgãos-alvo não foi considerado necessário, devido à ausência de sinais clínicos e achados macroscópicos.

3.5. Peso Corporal

O peso corporal médio diminuiu para ambos os sexos no primeiro dia após a exposição. As fêmeas expostas também apresentaram redução no peso corporal médio no terceiro dia após a exposição (Tabela 1). Todos os animais excederam seus pesos iniciais ao final da fase experimental (dia 14). Os pesos corporais são apresentados individualmente nas Tabelas 6 e 7 (página 15).

Tabela 1. Peso corporal médio (g), desvio padrão (g), e ganho (%) por sexo e dia de pesagem após a exposição aerógena ao **WASTEC OC 915**.

Dia	Machos			Fêmeas		
	Média	DP	N	Média	DP	N
0	277,00	9,03	5	220,80	5,81	5
1	274,40	10,01	5	216,60	6,66	5
3	287,80	11,82	5	220,40	6,02	5
7	302,20	13,05	5	223,20	5,76	5
14	330,20	16,19	5	230,20	7,85	5
Dia 0-1 (%)		-0,94		-1,90		
Dia 0-3 (%)		3,90		-0,18		
Semana 1 (%)		9,10		1,09		
Semana 2 (%)		9,27		3,14		
Total (%)		19,21		4,26		

Valores de média, DP e ganho calculados usando o software Microsoft Excel 2003 ® e arredondados para a segunda casa decimal; **DP**: desvio padrão; **N**: número de animais vivos quando o peso corporal foi aferido.

4. Conclusão

A concentração letal mediana combinada (machos e fêmeas) em um período de exposição *nose-only* de 4 horas (4-h CL₅₀) ao **WASTEC OC 915** inalado por ratos *Wistar-Hannover* foi maior que 24,479 mg/L, a maior concentração nominal alcançável na atmosfera da câmara.

5. Referências Bibliográficas

- [1] **Brasil.** *Lei nº 6.638 de 08 de Maio de 1979.* Estabelece prática didático-científica da vivisseção de animais e determina outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 09 de maio de 1979.

- [2] **NRC - National Research Council.** (1996). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* National Academy Press, Washington.

6. Apêndice

6.1. Sinais Clínicos Individuais

Tabela 2. Sinais clínicos e hora do óbito observados após exposição inalatória ao WASTECC OC 915 (machos).

#	Sinais Clínicos	Início		Fim		Óbito	
		Dia	Hora	Dia	Hora	Dia	Hora
4	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
2	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
1	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
5	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
6	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-

#: número dos animais.

Tabela 3. Sinais clínicos e hora do óbito observados após exposição inalatória ao WASTECC OC 915 (fêmeas).

#	Sinais Clínicos	Início		Fim		Óbito	
		Dia	Hora	Dia	Hora	Dia	Hora
8	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
10	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
11	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
7	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-
9	<i>N.d.n.</i>	-	-	-	-	-	-

#: número dos animais.

A exposição foi realizada no dia 21 de Janeiro de 200 e o período de exposição foi concluído às 16:40 horas.

6.2. Achados Macroscópicos Individuais

Tabela 4. Achados macroscópicos após a exposição inalatória ao WASTEC OC 915 (machos).

#	Órgão	Achado Macroscópico	Órgão coletado
4	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
2	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
1	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
5	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
6	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não

n.d.n.: nada digno de nota; #: número dos animais.

Tabela 5. Achados macroscópicos após a exposição inalatória ao **WASTEC OC 915** (fêmeas).

#	Órgão	Achado Macroscópico	Órgão coletado
8	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
10	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
11	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
7	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não
9	<i>Cavidade Nasal</i>	n.d.n.	não
	<i>Laringe</i>	n.d.n.	não
	<i>Traquéia</i>	n.d.n.	não
	<i>Pulmão</i>	n.d.n.	não
	<i>Fígado</i>	n.d.n.	não
	<i>Rins</i>	n.d.n.	não

n.d.n.: nada digno de nota; #: número dos animais.

6.3. Pesos corporais individuais e idade

Tabela 6. Pesos corporais individuais (g) e idade (semanas) dos ratos expostos (machos).

<i>Grupo</i>	<i>Idade</i>	<i>#</i>	<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 14</i>	<i>Óbito</i>
Tratado	8	4	280	275	292	308	340	-
		2	265	262	271	284	310	-
		1	272	268	283	295	316	-
		5	279	279	290	306	338	-
		6	289	288	303	318	347	-
Min.			265,00					
Máx.			289,00					
Média			277,00					
N	-	-	5	-	-	-	-	-
-20%			221,60					
20%			332,40					

Média, DP e $\pm 20\%$ calculados utilizando o software Microsoft Excel 2003 ® e arredondados para a segunda casa decimal; **Min:** mínimo; **Máx:** máximo; **N:** número de animais; **DP:** desvio padrão; **#:** número dos animais.

Tabela 7. Pesos corporais individuais (g) e idade (semanas) dos ratos expostos (fêmeas).

<i>Grupo</i>	<i>Idade</i>	<i>#</i>	<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 14</i>	<i>Óbito</i>
Tratado	11	8	226	223	224	225	236	-
		10	211	206	210	213	217	-
		11	221	215	225	226	229	-
		7	224	218	221	225	234	-
		9	222	221	222	227	235	-
Min.			211,00					
Máx.			226,00					
Média			220,80					
N	-	-	5	-	-	-	-	-
-20%			176,64					
20%			264,96					

Média, DP e $\pm 20\%$ calculados utilizando o software Microsoft Excel 2003 ® e arredondados para a segunda casa decimal; **Min:** mínimo; **Máx:** máximo; **N:** número de animais; **DP:** desvio padrão; **#:** número dos animais.