

TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

ESTUDIO: IRRITACION OCULAR AGUDA

PRODUCTO: PET PROTECTION

ELABORADO PARA:

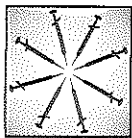
ICOFARMA S.A.

ELABORADO POR:

TECMOL FARMACEUTICA LTDA

10 DE SEPTIEMBRE DE 2.010

BOGOTA, D.C



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 1 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

DEPARTAMENTO DE CONTROL CALIDAD

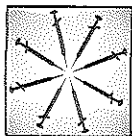
ANALISIS BIOLOGICO

PRUEBA DE TOXICIDAD

1. CERTIFICADO DE ANALISIS:

1.1 Tipo de Estudio:	ESTUDIO DE IRRITACION OCULAR
1.2 Análisis No:	10C0081-B
1.3 Cliente:	ICOFARMA S.A.
1.4 Nombre Comercial:	PET PROTECTION
1.5 Composición:	INGREDIENTE ACTIVO: - FIPRONIL 10.0 g - BUTOXIDO DE PIPERONILO 1.5 g INGREDIENTES ADITIVOS: - SOLUPHOR P 22.0 g - GALATO DE PROPILO 0.05 g - GLICEROL FORMAL c.s.p 100 ml
1.6 Fecha de Recepción de Muestras:	2010-03-15
1.7 Fecha de Análisis:	2010-05-10

NOTA: Resultado según muestra enviada



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 2 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

2. TITULO:

Estudio de Irritación Ocular Aguda del producto **PET PROTECTION**. Líquido.

3. RESUMEN:

El producto a valorar fue **PET PROTECTION**. Se utilizaron conejos Nueva Zelanda blancos suministrados por la cunicultura Bachué, a los cuales, se les dosificó 0.1 mL una vez, aplicado en el saco conjuntival derecho a un grupo de 6 animales (3 machos y 3 hembras enjaulados de forma individual) y con un periodo de ayuno de 12 horas.

La observación de los animales posterior a la dosificación fue realizada en forma permanente durante el primer día de la administración y luego fue realizada dos veces por día para control y evidenciar lesión ocular. El estudio tiene una duración de 21 días.

Con lo anterior se estableció que bajo las condiciones del ensayo, El producto **PET PROTECTION** presenta un comportamiento **LEVE IRRITANTE OCULAR REVERSIBLE**.

4. GUIAS:

Office of prevention, pesticides and toxic substances. OPPTS. Guidelines 870.2400. Enviromental Protection Agency. EPA.712-C-96-190 June 1.996
Test Acute Eye Irritation.

5. INTRODUCCION:

5.1 Objetivo:

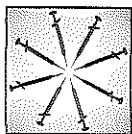
El objetivo del estudio es evaluar la Irritación Ocular Aguda de la muestra **PET PROTECTION** luego de una administración por vía ocular (Saco conjuntival derecho) una única dosis.

El diseño experimental está basado en las guías de la EPA y OPPTS.

5.2 Definiciones:

5.2.1 Irritación Ocular:

Corresponden a las alteraciones reversibles del ojo, manifestaciones después de la aplicación en el saco conjuntival (Parte anterior)



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 3 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

5.2.2 Corrosión Ocular:

Es la producción de daño ocular irreversible en el ojo después de la aplicación de una sustancia determinada en la superficie anterior ocular.

5.2.3 Dosificación:

Término que determina la dosis, frecuencia y duración.

5.2.4 Dosis:

Es la cantidad de sustancia administrada a evaluar. La dosis se expresa en mg ó g por unidad de peso del animal en prueba.

5.2.5 Dosis Efecto:

Es la relación entre la dosis y la magnitud de un efecto biológico definido en un individuo ó población.

5.2.6 Dosis – Respuesta:

Es la relación entre la dosis y la proporción de una población que demuestra un efecto definido.

5.3 Especie:

El Conejo Nueva Zelanda Blanco es la especie recomendada por la guía, ya que es el animal que refleja con mayor exactitud los efectos irritantes oculares de una sustancia y así se pueden transpolar a los efectos en la salud humana.

6. MATERIALES Y METODOS:

6.1 Muestra Recibida:

La sustancia a valorar fue recibida de la compañía **ICOFARMA S.A.** el día 2010/03/15, en su forma de producto terminado. (Líquido).

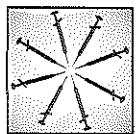
Composición suministrada por la compañía **ICOFARMA S.A.**

6.2 Preparación de la Muestra:

La muestra se utilizó en la misma forma en que se recibió. (Líquido)

6.3 Procedimiento Experimental:

El estudio fue realizado en un grupo de 6 conejos (3 Machos y 3 Hembras).



TECMOL
FARMACEÚTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 4 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

Para realizar el estudio se tomó como base el procedimiento: EPA – OPPTS 870.2400. – Acute Eye Irritation - El producto **PET PROTECTION** fue administrado en el saco conjuntival derecho.

Los animales se observaron permanentemente durante las primeras 0 horas, 1, 6, 12, 18, 24, 72 horas, 7, 10, 14, 17 y 21 días para observar irritación ocular luego de la dosificación. Se utilizaron materiales como balanza, linterna, lupa, jeringa.

6.4 Modelo Animal:

La especie de experimentación utilizada para la prueba fue el conejo Nueva Zelanda, proveniente de la cunicultura Bachué. Antes del ensayo los animales fueron valorados clínicamente, así:

6.4.1 Exámenes Previos:

Se utilizan animales jóvenes sanos adultos, los cuales se les valora antes de ingresar al bioterio su estado físico y comportamental, así:

- Movilidad: Debe ser inquieto y dinámico
- Apetito:
- Postura
- Apariencia física.

6.4.2 Exámenes de Salud:

Antes del ensayo los animales fueron valorados clínicamente su estado de salud, así: Se les realiza examen médico de:

- Pelo: Examina suavidad, brillo y apariencia
- Mucosas: Ojos, nariz, boca, genitales externos y todas las zonas aledañas deben estar libres de cualquier acumulación de material extraño, así como en el interior del conducto auditivo externo.
- Color: Se les examina los cambios en la apariencia corporal; Iris, piel y cara interna de la orejas.
- Tacto: Examen de textura al tacto como irregularidades, descamación, costras.
- Deformaciones: Se les examina dilatación de abdomen, protuberancias y asimetrías.
- Los animales son adultos jóvenes sanos, con un peso entre 2000 y 2800 g, los cuales, se seleccionaron de forma aleatoria.

Son usados 6 animales (3 machos y 3 hembras) correctamente identificados.

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

6.4.3 Metodología de Adaptación - Cuarentena:

Fueron alojados en jaulas de acero inoxidable 1 conejo por jaula, para una observación individual, de tal forma que no se interfiera con la observación, ni en el desempeño normal del animal.

Se marca cada animal y cada grupo fue identificado mediante tarjetas donde se lleva el registro del número de animales, sexo, fecha de tratamiento, peso y observaciones.

Los animales fueron trasladados al área designada para su alojamiento dentro del laboratorio, bajo condiciones ambientales de luminosidad de 12x12, temperatura promedio de 20° C y humedad relativa entre 30 - 70 %.

Se les suministró agua y comida de composición conocida ad-libitum durante todo el tiempo de adaptación y cuarentena.

Los animales se mantuvieron en adaptación y cuarentena por un periodo de 15 días calendario a las condiciones ambientales del bioterio.

Luego de aplicar la sustancia, los animales se trasladaron al lugar de observación, donde se evaluaron individualmente durante todo el periodo de la prueba.

Los animales se mantuvieron en un área aislada individual y bajo las condiciones ambientales requeridas por un periodo de observación de 14 días luego de ser aplicada la sustancia.

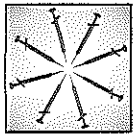
Las condiciones ambientales del bioterio, en el desarrollo del estudio fueron: Temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa entre 30 – 70 % y un foto-periodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, para mantener el ciclo circadiano.

La prueba también se realiza con un control que es el ojo izquierdo, sin administración de sustancia alguna.

6.5 Condiciones Ambientales:

Los animales fueron acomodados de 1 por cada jaula, de tal forma que no se interfiriera la observación individual. Se marca cada animal en la oreja y está identificado mediante tarjetas donde se lleva el registro del número de animales, sexo, fecha de tratamiento y observaciones.

Los animales se mantuvieron a una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa $55\% \pm 5\%$ y un foto-periodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, para mantener el ciclo circadiano.



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 6 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

6.6 Periodo de Exposición:

Se les retiró la comida 12 horas antes y luego de 6 horas de administrarle el producto, se les comenzó a suministrar comida (Purina – Conejina®).

La comida y el agua durante todo el estudio se les administró ad libitum.

6.7 Niveles de Dosificación:

Se tomó un solo nivel de dosificación 0.1 mL.

6.8 Periodo de Observación:

La observación luego de la administración es por un periodo de 21 días prestando especial atención al momento de la dosificación. Se observan a las 1, 6, 12, 18, 24, 48, 72 horas y 7, 14, 21 días, para determinar el momento de aparición de los signos de toxicidad (Irritación), duración e intensidad.

Se realizan observaciones en córnea, iris, conjuntiva.

6.8.1 Grados de Lesión Ocular:

6.8.1.1 Córnea:

6.8.1.1.1 Opacidad (Grado de densidad) (A):

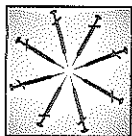
• Areas de opacidad difusa o dispersa	0
• Areas difusas fácilmente perceptibles, iris visible	1
• Area opalescentes (nacarada), iris ligeramente oscuro	2
• Area opalescentes (nacarada), iris no visible	3
• Cornea opaca, iris no perceptible	4

6.8.1.1.2 Area de Córnea envuelta (B):

Un cuarto o menos pero no cero	1
Mayor que un cuarto	2
Mayor que la mitad	3
Mayor que tres cuartos	4

Valoración de las reacciones en córnea: $A \times B \times 5$

Total máximo 80



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 7 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

6.8.1.2 Iris:

6.8.1.2.1 Valores de reacción (A):

Normal	0
Pliegues profundos, hiperemia moderada (ligera reacción +)	*1
Sin reacción a luz, hemorragia, destrucción macroscópica	2

Valoración de las reacciones en iris A*5

Total máximo 10

6.8.1.3 Conjuntiva:

6.8.1.3.1 Enrojecimiento (A):

Vasos sanguíneos normales	0
Vasos hiperémicos	1
Vasos individuales difusos color carmesí	*2
Vasos difusos color rojo oscuro	3

6.8.1.3.2 Quemosis (B):

Sin inflamación	0
Ligera inflamación	1
Evidente inflamación	*2
Inflamación con párpados medio cerrados	3
Inflamación con párpados cerrados más de la mitad	4

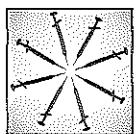
6.8.1.3.3 Descarga - C:

Ligera diferente a la normal	1
Con humedecimiento de párpado	2
Con humedecimiento de párpado y abundante área entorno al ojo	3

Valoración de las reacciones en conjuntiva (A+B+C)*2

Total máximo 20

La sumatoria de los totales anteriores nos da el VALOR DEL INDICE DE IRRITACION.



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO-Página 8 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

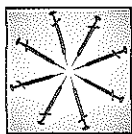
6.9 EXÁMENES CLÍNICOS:

- 6.91** Los exámenes clínicos se realizaron así: 1, 24, 48, 72 horas, 7, 14, 17 y 21 días luego de la administración del producto
- 6.92** Se registraron las observaciones en forma detallada: Se examinó la córnea, iris y conjuntiva, aplicando los valores dados para calcular los grados de lesión ocular, anteriormente descritos. (Item 6.8.1)
- 6.93** Se calcula el grado de irritación de cada animal en una base de 0 – 110.

7. RESULTADOS:

- 7.1** La irritación ocular se evaluó de acuerdo a los grados de reacción en iris, conjuntiva, córnea. (Tablas anteriores – Grados de lesión ocular).
- 7.2** Los resultados de la aplicación del producto **PET PROTECTION** en conejos Nueva Zelanda, se relacionan en el anexo 1.
- 7.3** La muestra del producto **PET PROTECTION** ocasionó leve irritación ocular con signos de enrojecimiento y secreción que afectaron la conjuntiva durante los dos primeros días del periodo de observación.
- 7.4** Desde el tercer día en adelante los ojos de los ejemplares comenzaron a recuperar su estado normal y el quinto día todos los ojos se mostraron normales.

La muestra del producto **PET PROTECTION** de la empresa **ICOFARMA S.A.** se ubica como **LEVE IRRITANTE OCULAR REVERSIBLE**.



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 9 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

8. CONCLUSIONES:

De acuerdo a lo descrito anteriormente se concluye que el producto **PET PROTECTION** de la compañía **ICOFARMA S.A.**, presenta un comportamiento **LEVE IRRITANTE OCULAR REVERSIBLE**, aplicando las guías EPA - OPPTS 870.2400 – Acute Eye Irritation .

9. BIBLIOGRAFIA.

- 9.1 Organization for Economic Cooperation and Development.OECD.Test of chemical. Guidelines 405: Acute Eye Irritation/corrosion. Adopted 1982
- 9.2 United States Environmental Protection Agency Prevention, Pesticides and toxic substances (7101) EPA –C-96-189 June 1996.
- 9.3 The office of prevention, pesticides and Toxic Substances.OPPTS. 870.2400. Acute Eye Irritation. June 1996
- 9.4 Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act. FIFRA.7 U.S.C 136 and Toxic Substances Control Act. TSCA. 15 U.S.C 2601

Responsable del Estudio: **CARLOS MANUEL BUSTOS BOLIVAR**

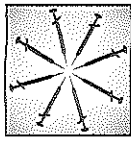
Químico Farmacéutico. Universidad Nacional

Magister Internacional en Toxicología. Colegio de Químicos de Sevilla. España

Director Técnico

Registro Profesional No: 04017282607961573

Laboratorio registrado ante el ICA (Instituto Colombiana Agropecuario) resolución .3173 del 25 de Nov de 2.002



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 10 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

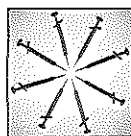
IRRITACION OCULAR AGUDA

ANEXO 1

TABLA REACCIONES OCULARES ADVERSAS

Análisis No:	10C0081-B	Lote No:	NA
Producto:	PET PROTECTION	Dosis:	0,1 mL
Cliente:	ICOFARMA S.A.	Fecha:	2010-05-10

ANIMAL 1 E						
Peso Inicial: 2650			Sexo: Machos			
Peso Final: 2750						
Córnea		Iris	Conjuntiva			Tiempo de observación
0	0	0	2	2	2	1 Hora
0	0	0	2	2	2	24 Horas
0	0	0	1	1	1	48 Horas
0	0	0	1	1	1	72 Horas
0	0	0	0	0	0	5 Días
0	0	0	0	0	0	10 Días
0	0	0	0	0	0	14 Días
0	0	0	0	0	0	17 Días
0	0	0	0	0	0	21 Días



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 11 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

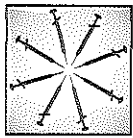
IRRITACION OCULAR AGUDA

ANEXO 1

TABLA REACCIONES OCULARES ADVERSAS

Análisis No:	10C0081-B	Lote No:	NA
Producto:	PET PROTECTION	Dosis:	0,1 mL
Cliente:	ICOFARMA S.A.	Fecha:	2010-05-10

ANIMAL 2 E						
Peso Inicial: 2750			Sexo: Machos			
Peso Final: 2800						
Córnea		Iris	Conjuntiva			Tiempo de observación
0	0	0	2	2	2	1 Hora
0	0	0	2	2	2	24 Horas
0	0	0	1	1	1	48 Horas
0	0	0	1	1	1	72 Horas
0	0	0	0	0	0	5 Días
0	0	0	0	0	0	10 Días
0	0	0	0	0	0	14 Días
0	0	0	0	0	0	17 Días
0	0	0	0	0	0	21 Días



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 12 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

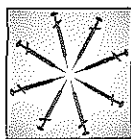
IRRITACION OCULAR AGUDA

ANEXO 1

TABLA REACCIONES OCULARES ADVERSAS

Análisis No:	10C0081-B	Lote No:	NA
Producto:	PET PROTECTION	Dosis:	0,1 mL
Cliente:	ICOFARMA S.A.	Fecha:	2010-05-10

ANIMAL 3 E						
Peso Inicial: 2550			Sexo: Machos			
Peso Final: 2600						
Córnea		Iris	Conjuntiva			Tiempo de observación
0	0	0	2	2	2	1 Hora
0	0	0	2	2	2	24 Horas
0	0	0	1	1	1	48 Horas
0	0	0	1	1	1	72 Horas
0	0	0	0	0	0	5 Días
0	0	0	0	0	0	10 Días
0	0	0	0	0	0	14 Días
0	0	0	0	0	0	17 Días
0	0	0	0	0	0	21 Días



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 13 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

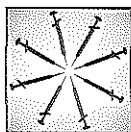
IRRITACION OCULAR AGUDA

ANEXO 2

TABLA REACCIONES OCULARES ADVERSAS

Análisis No:	10C0081-B	Lote No:	NA
Producto:	PET PROTECTION	Dosis:	0,1 mL
Cliente:	ICOFARMA S.A.	Fecha:	2010-05-10

ANIMAL 1 F						
Peso Inicial: 2400			Sexo: Hembras			
Peso Final: 2450						
Córnea		Iris	Conjuntiva			Tiempo de observación
0	0	0	2	2	2	1 Hora
0	0	0	2	2	2	24 Horas
0	0	0	1	1	1	48 Horas
0	0	0	1	1	1	72 Horas
0	0	0	0	0	0	5 Días
0	0	0	0	0	0	10 Días
0	0	0	0	0	0	14 Días
0	0	0	0	0	0	17 Días
0	0	0	0	0	0	21 Días



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 14 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

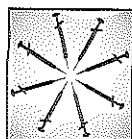
IRRITACION OCULAR AGUDA

ANEXO 2

TABLA REACCIONES OCULARES ADVERSAS

Análisis No:	10C0081-B	Lote No:	NA
Producto:	PET PROTECTION	Dosis:	0,1 mL
Cliente:	ICOFARMA S.A.	Fecha:	2010-05-10

ANIMAL 2 F						
Peso Inicial: 2450 Peso Final: 2600			Sexo: Hembras			
Córnea		Iris	Conjuntiva			Tiempo de observación
0	0	0	2	2	2	1 Hora
0	0	0	2	2	2	24 Horas
0	0	0	1	1	1	48 Horas
0	0	0	1	1	1	72 Horas
0	0	0	0	0	0	5 Días
0	0	0	0	0	0	10 Días
0	0	0	0	0	0	14 Días
0	0	0	0	0	0	17 Días
0	0	0	0	0	0	21 Días



TECMOL
FARMACEUTICA LTDA.

SERVICIOS Y PRODUCTOS
NIT.830.057.983-1

PET PROTECTION - IO -Página 15 de 15

**PRUEBA DE IRRITACION OCULAR
PARA EL PRODUCTO PET PROTECTION
DE LA EMPRESA ICOFARMA S.A.**

IRRITACION OCULAR AGUDA

ANEXO 2

TABLA REACCIONES OCULARES ADVERSAS

Análisis No:	10C0081-B	Lote No:	NA
Producto:	PET PROTECTION	Dosis:	0,1 mL
Cliente:	ICOFARMA S.A.	Fecha:	2010-05-10

ANIMAL 3 F.						
Peso Inicial: 2450 Peso Final: 2540			Sexo: Hembras			
Córnea		Iris	Conjuntiva			Tiempo de observación
0	0	0	2	2	2	1 Hora
0	0	0	2	2	2	24 Horas
0	0	0	1	1	1	48 Horas
0	0	0	1	1	1	72 Horas
0	0	0	0	0	0	5 Días
0	0	0	0	0	0	10 Días
0	0	0	0	0	0	14 Días
0	0	0	0	0	0	17 Días
0	0	0	0	0	0	21 Días