

APROB



Director general CNSP
Marie PÎNZARU

2016

RAPORT

privind evaluarea rezultatelor testărilor toxicologice
produsul „Farmol-Cid”

I. Introducere

Produsul „Farmol-Cid” reprezintă un preparat biodistructiv cu acțiune bactericidă, fungicidă fiind clasat la grupa principală 1, tipul de produs 1-4, fiind propus pentru dezinfecția mâinilor și suprafețelor, fabricat în Republica Moldova.

Experimentul a fost efectuat la comanda producătorului S.R.L. „LUXFARMOL” (Republica Moldova).

Scopul investigațiilor — a estima în condiții experimentale proprietățile toxicologice ale dezinfectantului „Farmol-Cid”.

Cercetările toxicologice ale produsului „Farmol-Cid” au fost organizate în laboratorul toxicologia experimentală al Centrului Național Sănătate Publică. În cadrul laboratorului se implementează metode contemporane preluate din Ghidurile Organizației pentru Dezvoltare și Cooperare Economică (OECD). Secțiunea 4. Efectele asupra sănătății, pe modele biologice, aprobate în modul stabilit prin ordinul Ministerului Sănătății nr. 189 din 13.03.2014 „Cu privire la aprobare pentru utilizare pe teritoriul Republicii Moldova a metodelor de testări toxicologice din domeniul supravegherii de stat a sănătății publice”.

Conform domeniului de acreditare (Certificatul de Acreditare nr. LÎ – 044 din 10.09.2015), programul de cercetare toxicologică a produsului „Farmol-Cid” a constituit din prestarea următoarelor încercări de laborator:

1. evaluarea toxicității acute la administrarea intragastrică a produsului chimic, utilizând procedura cu doză fixă pe animale de laborator (DL_{50} per os).
2. Determinarea proprietăților de iritare dermică pe animale de laborator.
3. Evaluarea proprietăților de iritare a mucoasei ochiului pe animale de laborator.

II. Materiale și metode

2.1. Obiectul de studiu

Conform standardului de firmă și instrucțiunii de utilizare aprobate în modul stabilit SF 1008611001268-002-2016, dezinfectarea cu produsul „**Farmol-Cid**” se efectuează în formă nativă (nediluată). Acest produs are calități de agent pentru curățare și dezinfectarea mâinilor, suprafețelor, obiectelor de inventar și echipamentelor, mobilierului, utilajelor din domeniul public și industriei, în laboratoare, congelatoare și camere frigorifice.

Dezinfectantul reprezintă un lichid omogen transparent, incolor până la albastru pal, cu miros de alcool (alcool etilic – 70-75%, nr. CAS 64-17-5), densitatea relativă – 0,877-0,894 g/cm³.

În proba investigată a produsului substanțele chimice constituie 0,1-0,2 % - conținutul în compoziția sărurilor cuaternare de amoniu în recalcul la clorură de benzalconiu (nr. CAS 63449-41-2) și 0,00009% - albastru de metilen (nr. CAS 61-73-4).

2.2. Animale de laborator

Experimentul s-a efectuat pe 10 șobolani linia Wistar, cu masa corporală 200-240 gr, 3 cobai de ambele genuri cu masa corporală de 390-410 gr, 3 iepuri albi cu masa corporală 2-3 kg. Condițiile de întreținere ale animalelor de laborator sunt în corespundere cu Regulamentul vivariului CNSP. Toate animalele au fost întreținute la o rație alimentară standard.

2.3. Metodele de investigare

1. Determinarea dozei letale (DL₅₀ per os) la administrarea intragastrică a produsului „**Farmol-Cid**”

Evaluarea toxicității acute la administrarea intragastrică a produsului „Hipoclorit de sodiu” s-a efectuat în conformitate cu metodele preluate din Ghidul Organizației pentru Dezvoltare și Cooperare Economică (OECD). Toxicitatea orală acută - procedura cu doza fixă (Testul Nr. 420, 2001); Toxicitatea orală acută (Testul Nr. 423, 2001).

Principiul metodei: Unor grupuri de animale de același sex li se administrează doze fixe de 5, 50, 300 și 2 000 mg/kg într-o procedură secvențială. Doza inițială a constituit 2000 mg/kg și s-a selectat pe baza unui studiu de observare pentru

identificarea dozei care presupune producerea unor semne de toxicitate fără a cauza efecte toxice grave sau decesul animalelor.

Experimentul s-a efectuat pe 10 șobolani linia Wistar de același gen (femele) cu masa corporală 200-240 gr prin administrarea într-o singură doză, prin gavaj, utilizând o sondă gastrică.

Calculul dozei s-a efectuat reieșind din conținutul substanței active în produsul tehnic și densitatea preparatului. Concentrația alcoolului etilic constituie 70-75%, clorurei de benزالconiu - 0,1-0,2 % și 0,00009% - soluției albastru de metilen.

Grupa statistică alcătuiește câte 5 animale în ambele grupe: experimentală și martor. Animalele sunt observate individual după administrarea dozei, o dată în primele 30 de minute, periodic în primele 24 de ore, acordându-li-se o atenție specială în primele 4 ore, și, ulterior, zilnic, timp de 14 zile. Se înregistrează manifestările clinice a apariției semnelor de intoxicații, comportamentul, aspectul exterior, dinamica masei corporale, pieirea animalelor, etc.

2. Determinarea proprietăților de iritare dermică a produsului „Farmol-Cid” pe animale de laborator s-a efectuat în conformitate cu metoda Toxicitate acută: iritație/coroziune dermică OECD, Test Nr.404, 2011.

Principiul metodei de determinare a proprietăților de iritare/coroziune dermică constă în evaluarea manifestării semnelor de acțiune iritantă/corozivă a pielii la aplicarea produsului de testat, într-o singură doză în stare nativă pe pielea unui animal de experiență, zonele netratate ale pielii animalului de experiență se utilizează ca martor.

Experimentul s-a efectuat pe 3 cobai cu masa corporală 390-410 gr. La intervalele specificate în metodă se examinează și se punctează gradul de iritare/coroziune. Cu 24 ore înainte se pregătește pielea animalelor luate în experiment. Blana animalelor se tunde din regiunea dorsală a corpului animalelor, se evită lezarea pielii. În experiment se utilizează animale cu pielea sănătoasă, intactă. Produsul de testat în stare nativă se aplică pe o suprafață de 6 cm² a pielii și se acoperă cu un compres din tifon, care se fixează cu plasture hipoalergic. Se asigură un contact ușor între compres și piele cu ajutorul unui pansament semi-ocluziv pentru întreaga durată a perioadei de expunere - 4 ore. Se examinează semnele de eritem și edem la toate animalele și se punctează reacțiile la 60 min, iar apoi la 24, 48, 72 ore de la îndepărtarea plasturelui.

3. Evaluarea proprietăților de iritare asupra membranelor mucoase ale ochilor a produsului „Farmol-Cid” la iepuri s-a efectuat în conformitate cu metoda OECD: toxicitatea acută: iritație/coroziune oculară. Test Nr. 405 (2002).

Principiul metodei constă în determinarea prezenței sau lipsei acțiunii iritante asupra mucoasei ochiului. Experimentul s-a efectuat pe 3 iepuri albinoși cu masa corporală 2-3 kg.

Produsul „Farmol-Cid”, testat în stare nativă se introduce în sacul conjunctival al ochiului drept al fiecărui animal, după îndepărtarea delicată a pleoapei inferioare de pe globul ocular. Pleoapele se țin apoi lipite pentru circa o secundă, pentru a preveni pierderea materialului. Celălalt ochi, care nu se testează, servește ca martor. Starea membranei mucoase a ochiului se evaluează peste 1 oră, 24 ore 48 ore, 72 ore și 7, 14 zile de la aplicarea substanței de testat.

III. Rezultatele cercetărilor.

1. Evaluarea toxicității acute la administrarea intragastrică (DL_{50} per os) a produsului „Farmol-Cid”

Produsul testat s-a administrat secvențial:

I etapă - 1 șobolan;

II etapă - după 24 ore - 4 șobolani.

Dezinfectantul s-a introdus în tractul gastro-intestinal o singură dată în volum de 1,9 ml ce corespunde dozei 2000 mg/kg masă corp. Animalele grupei martor au primit același volum de apă distilată. Pe parcursul primei ore s-au observat unele semne de intoxicație — adinamic ușoară, dereglări în coordonare cu restabilire totală. Pe toată perioada de observație (14 zile) a lipsit pieirea animalelor (datele sunt prezentate în tabelul 1).

Tabelul 1.

Dinamica pieirii și masei corporale a șobolanilor după administrarea produsului „Hipoclorit de sodiu”.

Timpul de observări																						
m c g.	Marca rea ani mal	30 min	1 oră	2 ore	*	4 ore	24 ore	2 zi	3 zi	4 zi	5 zi	6 zi	7 zi	8 zi	9 zi	10 zi	11 zi	12 zi	13 zi	14 zi	m.c. g	%
200.0	1	*	*	*	*	*	*	N	N	N	N	N	200.0	N	N	N	N	N	N	N	200.5	0
206.0	2	*	*	*	*	*	*	N	N	N	N	N	210.0	N	N	N	N	N	N	N	205.5	0
215.0	3	*	*	*	*	*	*	N	N	N	N	N	212.0	N	N	N	N	N	N	N	215.0	0
200.0	4	*	*	*	*	*	*	N	N	N	N	N	200.0	N	N	N	N	N	N	N	200.0	0
210.0	5	*	*	*	*	*	*	N	N	N	N	N	215.0	N	N	N	N	N	N	N	210.0	0
	martor																					
220.0	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	200.0	N	N	N	N	N	N	N	222.0	0
300.0	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	230.0	N	N	N	N	N	N	N	230.0	0

240,0	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	240,0	N	N	N	N	N	N	N	240,0	0
200,0	4	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	200,0	N	N	N	N	N	N	N	225,0	0
200,0	5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	205,0	N	N	N	N	N	N	N	240,0	0

Introducerea intragastrică a produsului în doza 2000 mg/kg masă corp nu a dus la pieirea animalelor. Dinamica masei corporale a șobolanilor, după 14 zile de observație, nu a suportat devieri atât în cadrul grupului experimental, cât și martor. Rezultatele cercetărilor denotă că, administrarea produsului studiat nu a dus la schimbări semnificative în starea generală a animalelor luate în experiment.

În așa fel, doza letală 50% a produsului „Farmol-Cid” pentru șobolanii femele este de 2000 mg/kg masă corporală. Conform clasificării GHS produsul se atribuie la clasa IV de pericol, ca fiind nepericulos pentru sănătatea umană.

2. Determinarea proprietăților de iritare dermică a produsului „Farmol-Cid” pe animale de laborator.

Testul s-a efectuat pe trei animale de laborator (cobai de culoare deschisă) cu masa corporală cuprinsă între 390-410 gr. Pielea cobailor luați în experiment a fost pregătită cu 24 ore înainte de începerea cercetării (blana animalelor s-a tuns cu o mașină de tuns specială).

Testul inițial constă din aplicarea unui animal a dozei secvențiale de 0,6 ml produs în stare nativă (câte 0,20 ml) - expoziția 3 min, 1 oră, 4 ore.

Testul de confirmare – aplicarea la 2 animale: câte 0,6 ml produs în stare nativă – expunerea 4 ore. Produsul de testat s-a aplicat pe o suprafață de 6 cm² a pielii și s-a acoperit cu un compres din tifon, care s-a fixat cu plasture hipoalergic. S-au dus observații după 3 min, 1, 24, 48, 72 ore de la îndepărtarea plasturelui (datele sunt prezentate în tabelul 2).

Tabelul 2.

Determinarea proprietăților de iritare dermică a produsului „Farmol-Cid”.

Nr animal	Mas. corp	Timpul de observări																Σ puncte
		3 min		1 oră		4 ore		24 ore		48 ore		72 ore		... zi		14zi		
		ede m	erit em	ede m	erit em	ede m	erit em	ede m	erit em	ede m	erit em	ede m	erit em	ede m	erit em	ede m	erit em	
Test inițial																		
1	400/410	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0					0/0
Test de confirmare																		
2	390/400					0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0					0/0
3	400/405					0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0					0/0

La aplicarea triplă a produsului nu s-au depistat semne de intoxicație. Pe perioada de observație partea corpului testată nu s-a diferențiat semnificativ față de partea corpului care a servit martor. După expunerea de 4 ore și 24 ore, atât la animalele din cadrul testului inițial, cât și cele expuse testului de confirmare au înregistrat semne ușoare de iritare ale pielii. După perioada de observație, suprafața aplicată a pielii a rămas intactă, netedă fără inflamații (0_p) și hiperemie (0_p). Iritarea cutanată este egală cu 0 puncte ($I_{cut} = 0 p$).

Tabelul 3.

Punctarea reacțiilor cutanate.

Formarea de eriteme și escare	Evaluarea în puncte
Fără eritem	0
Eritem foarte ușor (abia perceptibil)	1
Eritem bine definit	2
Eritem moderat spre grav	3
Eritem grav (roșu violaceu) cu formare de escare care împiedică punctarea eritemului	4
Maximun posibil: 4	

3. Evaluarea proprietăților de iritare asupra membranelor mucoase ale ochilor a produsului „Farmol-Cid” s-a efectuat pe 3 iepuri albișori cu masa corporală 2-3 kg, picurându-se secvențial (cu interval de 24 ore) câte 0,1 ml produs în stare nativă în sacul conjunctival al ochiului drept după îndepărtarea delicată a pleoapei inferioare de pe globul ocular. Pleoapele s-au ținut apoi lipite pentru circa o secundă, pentru a preveni pierderea substanței testate, după ce ochiul s-a spălat cu un jet de apă. Ochiul stâng a servit ca martor. Starea mucoasei ochiului s-a evaluat peste 1 oră, 24 ore 48 ore, 72 ore și 7, 14 zile de la aplicarea produsului testat (datele sunt prezentate în tabelul 4).

Tabelul 4.

Evaluarea proprietăților de iritare a produsului „Farmol-Cid”
asupra membranelor mucoase ale ochilor la iepuri.

Nr. d/o	Conjunctiva			Irisul	Corneea	
	Secreție	Hiperemie	Edem		Zona ariei opacitații	Gradul opacitații
Evaluarea după 60 min						
1.	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0
2.	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0
3.	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Evaluarea după 24 ore						

1.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Evaluarea după 48 ore						
1.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Evaluarea după 72 ore						
1.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Evaluarea după 7 zile						
1.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
2.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Suma de puncte	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0

La aplicarea unică a produsului în stare nativă în primele 60 min s-a observat o secreție ușoară. După 24 ore semnele obiective de iritare a mucoasei ochiului s-au manifestat prin hiperemie difuză de culoare roz pal, vasele sanguine oculare dilatate. Cantitatea secrețiilor nesemnificativă amplasate în colțul ochiului drept. Intensitatea acțiunii de iritare – slab iritant. $I_{irit}=1$ punct

Produsul testat irită mucoasa ochiului la iepuri, se atribuie la clasa 4 de pericol conform claselor de evaluare a intensității acțiunii iritante a produselor chimice asupra mucoasei ochiului (conform tabelului 5).

Tabelul 5.

Evaluarea intensității acțiunii iritante a produselor chimice asupra mucoasei ochiului.

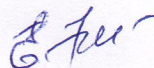
Intensitatea acțiunii de iritare	Punctajul mediu sumar (conjunctiva + corneea)	Clasele
Puternic exprimat	Mai mult de 11	1
Exprimat	7-10	2
Moderat	4-6	3
Slab	1-3	4
Lipsește	0	5

Concluzii.

Dezinfectantul lichid pentru dezinfecția mâinilor și suprafețelor „Farmol-Cid”

- este potențial toxic la introducerea intragastrică (se atribuie la clasa IV de pericol), DL 50 per os de 2000 mg/kg.
- Nu posedă acțiune de iritare asupra pielii;
- manifestă acțiune slabă de iritare asupra membranelor mucoase ale ochilor (clasa 4 de pericol).

Șef laborator toxicologie experimentală



Elena Jardan

Executori:

laborant în medicină

laborant în medicină

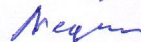
laborant



Raisa Miglatiev



Ala Ouatu



Svetlana Negru