



PEDIDO DE ESCLARECIMENTO - PE Nº 33/2018 - DICOA/DEALF/CBMDF

2 mensagens

Resgatécnica - Karla Brandão <karla.brandao@resgatecnica.com.br>
Para: impugnacoescbmdf@gmail.com

20 de setembro de 2018 18:13

Prezados,

Vimos tempestivamente a V.sa solicitar pedido de esclarecimento, visto que, solicitamos dentro do prazo legal, considerando que dia 25 de setembro de 2018 ocorrerá a sessão de processamento do pregão em questão.

O edital em seu termo de referência traz as exigências mínimas que as especificações devem cumprir. Ocorre, porém que divergências/não conformidades no conteúdo das especificações, impedem a cotação de fabricantes renomados, com produtos de qualidade, limitando a concorrência e o universo de licitantes no certame, como abaixo relacionamos:

Ocorre que os testes relacionados solicitados no ITEM 01 – EXTRATO GERADOR DE ESPUMA CLASSE "A" EM GALÃO DE 20 LITROS, estão direcionados para um único fabricante. Existem outras marcas com diferentes resultados de testes que apresentam produtos até mesmo superiores ao solicitado em edital. Em anexo encaminhamos testes internacionais realizados no extrato gerador de espuma classe A, no qual foi aprovado até mesmo pelo IBAMA, conforme documento anexado. Solicitamos a revisão dos testes exigidos para que outras empresas, com produtos até mesmo superiores tenham a oportunidade de participar do certame.

Ressaltamos ainda que é solicitado a composição em espuma e pode-se observar que o Extrato Gerador de Espuma, no qual foi submetido a testes da Fire Limit FL-02 conforme anexo, tem como composição NITROGENADO, sendo este menos agressivo ao meio ambiente, dado este extraído do Laudo Emitido pelo IBAMA, aprovando o extrato da marca citada acima.

Diante do exposto e com base nos suficientes argumentos expendidos, requeremos a vossa senhoria acatar o pedido de adequação das especificações de modo a contemplar o maior número possível de competidores no certame licitatório, de forma a manter incólume o princípio da legalidade e da livre concorrência.

Nestes termos, aguardamos deferimento.









Qualquer dúvida estamos a disposição.

Att.

Este email foi escaneado pelo Avast antivírus.
<https://www.avast.com/antivirus>

9 anexos**image003.jpg**
19K



-  **2018-SEI_IBAMA-Parecer-Tecnico-5142018-COASP-CGASQ-DIQUA (1).pdf**
396K
-  **TEST TOXICIDAD EN DAPHNIAS OCDE 202 (Espan~ol).pdf**
324K
-  **TEST TOXICIDAD EN PECES OCDE 203 (espan~ol).pdf**
348K
-  **TOXICIDAD CUTA´NEA AGUDA OECD 4021 (espan~ol).pdf**
2464K
-  **TOXICIDAD ORAL AGUDA oecd 423 (espan~ol).pdf**
876K
-  **TEST CORROSIVIDAD (espan~ol).pdf**
719K
-  **IRRITACIO´N-CORROSIVIDAD OCULAR AGUDA OECDE 405(Espan~ol).pdf**
974K
-  **BIODEGRABILIDAD OCDE 302 B (Espan~ol).pdf**
355K

CBMDF IMPUGNACOES <impugnacoescbmdf@gmail.com>
Para: Resgatécnica - Karla Brandão <karla.brandao@resgatecnica.com.br>

20 de setembro de 2018 18:29

Senhora representante da empresa Resgatécnica,

acusou o recebimento do presente pedido de esclarecimento. O mesmo será remetido ao setor técnico para pronunciamento.

Caso a manifestação não se dê no prazo legal, o certame será suspenso e nova data será marcada.

Outrossim, verifico que a análise do arquivo nominado "NONAME" está prejudicada, pois não há qualquer possibilidade de efetivar sua abertura. Caso a empresa não o reenvie num formatura cuja leitura seja possível, o mesmo será desconsiderado dentro da presente manifestação.

Atenciosamente,

Maj. Sodré - Pregoeiro do CBMDF/2018

[Texto das mensagens anteriores oculto]



INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS
COORDENAÇÃO DE AVALIAÇÃO AMBIENTAL DE SUBSTÂNCIAS E PRODUTOS PERIGOSOS
SCEN Trecho 2 - Ed. Sede do IBAMA - Bloco C, 1º andar, - Brasília - CEP 70818-900

Parecer Técnico nº 514/2018-COASP/CGASQ/DIQUA

Número do Processo: 02001.007287/2009-61

Interessado: CENTRO NACIONAL DE PREVENÇÃO E COMBATE AOS INCÊNDIOS FLORESTAIS

Brasília, 20 de junho de 2018

1. Em atendimento à solicitação efetuada pela Diretoria de Proteção Ambiental (DIPRO) para que a Diretoria de Qualidade Ambiental (DIQUA) se manifeste tecnicamente sobre o uso de retardantes de chamas aplicáveis no combate a incêndios florestais, apresentamos as seguintes considerações:

INTRODUÇÃO AOS RETARDANTES DE CHAMA

2. Os retardantes de chama atuam retardando a propagação das chamas por meio de ações físicas ou químicas. No caso das físicas, agem por meio de resfriamento quando os produtos liberam partículas de água ao serem expostos ao calor, ou pela formação de uma camada protetora que envolve os materiais. Já nas ações químicas, na presença de calor os retardantes reagem com o ar, produzindo gases não combustíveis que reduzem o suprimento de oxigênio utilizado pela combustão ou inibem a combustão ao reagir com polímeros na fase sólida, formando uma camada protetora (Troitzsch, J. H., 1998 apud Pieroni et al, 2017).

3. Os produtos químicos classificados como retardantes de chama são divididos em quatro grandes grupos: 1) **inorgânicos** (hidróxidos de alumínio, antimônio e estanho); 2) **orgânicos halogenados** (clorados e bromados); 3) **organofosforados** e 4) **à base de nitrogênio**. Cerca de 40% da produção mundial de retardantes de chama correspondem a hidróxido de alumínio, 20% a retardantes bromados, 15% de fosforados, 11% de clorados, 8 % de óxido de antimônio, enquanto outros tipos de retardantes representam cerca de 6% da produção mundial (¹*Environmental Health Criteria 192* apud Pieroni et al, 2017).

4. Existem mais de 75 diferentes substâncias utilizadas como retardantes de chama bromados (BFRs). Essas substâncias estão entre as mais usadas devido ao seu baixo custo, alta eficiência contra a propagação de chamas e fórmulas adaptáveis a quase todos os polímeros. Por isso têm se tornado uma classe de retardantes importante quanto a riscos ambientais, tendo sido detectados em todos os compartimentos ambientais e em diferentes regiões do globo e seus níveis têm aumentado ao longo dos anos. No entanto, são retardantes de chamas utilizados como aditivos em produtos industrializados, como forma de prevenção à combustão em polímeros, não sendo utilizado como agente extintor no combate direto a incêndios.

5. Devido às suas propriedades físico-químicas, alguns retardantes bromados são resistentes à degradação físico-química e biológica e, por isso, apresentam alta persistência no ambiente. São lipofílicos e hidrofóbicos, podendo então bioacumular e biomagnificar ao longo da cadeia trófica, podendo apresentar toxicidade aos organismos. Algumas dessas substâncias (PBBs, Penta-BDE, Octa-BDE e Deca-BDE) já tiveram a sua produção e comercialização restringida ou proibida na União Europeia e no Japão. Em 2009, os tetrabromodifenis éter (tetra-BDE), os pentabromodifenis éter (penta-BDE), os hexabromodifenis éter (hexa-BDE), os heptabromodifenis éter (hepta-BDE) e o hexabromobifenil (HxBB) foram incluídos no Anexo A da Convenção de Estocolmo por serem considerados Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), e tiveram a sua produção, uso e comercialização proibidos, visando a sua total eliminação. Já o hexabromociclododecano (HBCD), foi incluído no Anexo A em 2013 (Pieroni et al, 2017).

6. Como alternativa para substituição dos BRFs têm surgido os Retardantes de Chamas Não Halogenados (HFFRs), dos quais pode-se destacar os retardantes de chama inorgânicos, substâncias organofosforadas e seus sais e os retardantes de chama orgânicos à base de nitrogênio. Esses retardantes já são encontrados no mercado, porém pouco se sabe sobre seu comportamento ambiental e seus riscos à saúde humana (Waaijers, S. L. et al, 2013 apud Pieroni et al, 2017).

7. Um estudo recente demonstrou que retardantes de chama fosforados estão amplamente distribuídos pela atmosfera da América Latina, incluindo amostras do sul e nordeste do Brasil. Portanto, o uso de novos compostos não halogenados deve ser feito com cautela, já que as poucas informações sobre a sua persistência, bioacumulação e toxicidade deixam dúvida se realmente seriam menos problemáticos ao ambiente e seres humanos do que os retardantes de chama bromados (Rauert, C.. et al, 2016 apud Pieroni et al, 2017).

8. Quando se iniciou a utilização de agentes químicos para combate a incêndios, fazia-se distinção entre produtos retardantes e supressores de fogo, considerando-se que os primeiros seriam produtos utilizados para aplicação sobre os combustíveis à frente do fogo, que ainda não entraram em combustão, enquanto que os produtos supressores seriam aqueles aplicados sobre as chamas, nas operações de combate direto aos incêndios. Atualmente não se faz mais essa distinção, visto que a maioria dos produtos químicos é utilizada para os dois propósitos e, portanto o termo retardante de chama é empregado para todos os produtos químicos utilizados no combate aos incêndios florestais para a extinção do fogo (Chandler et al.,1983 apud Batista, A.C. et al., 2008).

9. Retardante de chama é um composto químico que, utilizado puro ou misturado com água, proporciona redução ou eliminação da queima de determinado material combustível (Ribeiro et al., 2006). Uma das vantagens do uso dessas substâncias é a capacidade de aumentar a eficiência do uso da água ou substituí-la à medida que se torna mais difícil se obter água ou aumenta a intensidade de um incêndio. A classificação mais utilizada para retardantes químicos para uso e aplicação na redução e inibição da combustão em materiais combustíveis florestais é aquela que considera o tempo de duração da ação do produto retardante (Pastor Ferrer, 2004; Ribeiro *et al*, 2006), a saber: Retardantes de curta duração – que atuam conforme a capacidade de manutenção da água, através da maior retenção da água pelo combustível ou pelo retardamento da evaporação. Nesse grupo estão incluídos os produtos “espumógenos” e os “viscosantes”; Retardantes de longa duração – que deixam resíduos de agentes inibidores da combustão sobre o material combustível depois de toda água ter sido evaporada. Nesse grupo estão incluídos todos os produtos retardantes à base de sais de amoníaco, tais como: sulfatos, fosfatos e polifosfatos, como também os nitrogenados.

10. De acordo com Pardo (2007), os retardantes de longa duração são sais compostos basicamente por polifosfato de amônia, que são diluídos em água para aplicação. São aplicados sobre o material combustível para retardar a combustão e esta ação permanece ativa mesmo após a evaporação da água. A ação do produto é impedir que ocorra a pirólise, transformando o material combustível em uma substância não inflamável (Filho, C.M. et al., 2012). Na presença do retardante, não ocorre a liberação de gases inflamáveis, combustão em chamas e a propagação do fogo, pois após a aplicação do retardante o material em combustão é transformado diretamente em carvão com liberação de água. Esta, por sua vez, absorve calor, evapora e diminui a temperatura do material combustível, impedindo a continuação da reação de combustão (Ribeiro et al., 2006 apud Maraboti, V.M., 2015).

11. A introdução de retardantes de chama no meio ambiente pode ter efeitos tóxicos em organismos. Inicialmente, pensava-se que os retardantes de chama utilizados em combate a incêndios não teriam nenhum efeito adverso sobre o meio ambiente, já que seus principais ingredientes ativos são fertilizantes agrícolas, no entanto, mesmo substâncias com baixa toxicidade inerente podem provocar efeitos ambientais adversos quando sua intensidade de uso é alta (Giménez et al, 2004).

12. Vários inibidores de corrosão e amônia, presentes na composição de retardantes de chama, são componentes tóxicos. A amônia vem da dissociação de sais de amônio, que estão presentes na maioria dos produtos retardantes de longa duração (Giménez et al, 2004).

13. Segundo Giménez et al, (2004), os estudos de toxicidade realizados com retardantes de chama aplicados no combate a incêndios podem ser classificados por: a) efeito na qualidade da água e, conseqüentemente, nos organismos aquáticos; b) efeitos de toxicidade na vegetação; e c) efeitos de toxicidade em humanos.

14. Como mencionado acima, os sais de amônio são um dos principais componentes tóxicos para organismos aquáticos presentes em alguns retardantes de chama de longa duração, visto que ocorre dissociação destes na água à amônia. Por outro lado, a oxidação de amônia para nitrato ou nitrito, consideradas substâncias de baixa toxicidade, é muito reduzida em condições de teste (Buhl e Hamilton, 2000 apud Giménez et

al, 2004). Entretanto, a quantidade de amônia na água não depende apenas da concentração sulfato de amônio ou fosfato fornecidos pelo retardante, mas também depende do pH, da temperatura da água, uma vez que são fatores que influenciam na reação de equilíbrio químico amônio/ amônia (Giménez et al, 2004).

15. Os resultados dos testes de toxicidade mostraram que os retardantes aplicados diretamente em córregos exigem grande diluição para não provocarem letalidade em organismos aquáticos; por exemplo, uma diluição no intervalo de 100 a 1.750 vezes foi necessária para se aproximar de uma concentração segura para peixes truta arco-íris (Gaikowski et al. 1996 apud Giménez et al, 2004). É essencial, portanto, evitar, sempre que possível, a aplicação de retardantes sobre corpos hídricos, no caso de aplicações aéreas, e nas suas proximidades, principalmente onde não há grande fluxo de água.

16. Estudos mostraram que a toxicidade de retardantes de chama de longa duração pode ser aumentada na presença de radiação UV-B e água (Little & Calfee, 2000 apud Giménez et al, 2004). Esses autores estudaram o impacto da radiação UV-B sobre o produto retardante de fogo e seu efeito sobre peixes truta-arco-íris *Oncorhynchus mykiss* e sobre rãs-leopardo *Rana sphenoccephala*. A toxicidade dos retardantes provocada pela radiação UV-B é devida ao ferrocianeto de sódio (YPS), utilizado na formulação como um inibidor de corrosão. Esta substância, na presença de energia solar natural ou sintética de laboratório UV-B e água, pode se decompor em cianeto de hidrogênio (HCN), por fotoativação. O HCN é tóxico para os organismos aquáticos quando libera cianeto livre. Portanto, a toxicidade dos retardantes contendo ferrocianeto de sódio aumentou significativamente quando foram expostos à radiação UV-B. Esses estudos realizados por Little & Calfee demonstraram a periculosidade do uso de retardantes que contenham ferrocianeto de sódio e apontou que o cianeto fotoativado apresenta uma concentração letal muito baixa (CL₅₀: 50 µg L⁻¹).

17. De acordo com os diversos autores citados no artigo de revisão de Giménez et al, 2004, o impacto ambiental dos retardantes de chama depende diretamente da persistência ambiental do produto, da quantidade aplicada e do local de aplicação. Como forma de mitigação para esses impactos negativos, o Serviço Florestal dos Estados Unidos recomenda evitar aplicação de retardantes de chama próximo a córregos (Giménez et al, 2004). Quando os retardantes de chama são aplicados em excesso, esses produtos químicos podem penetrar no solo e nas plantas provocando efeitos tóxicos na vegetação. Segundo Bradstock et al. (1987), o sulfato de amônio, um componente comum em retardantes de longa duração, danifica e mata folhas conforme testes realizados em florestas de eucalipto. Essa substância pode afetar também o nível de cobertura da vegetação e o número de espécies vegetais, no entanto, é solúvel em água e pode ser eliminado pela chuva (Bradstock et al.,1987 apud Giménez et al, 2004).

18. A maior parte do trabalho realizado para determinar o impacto do uso de retardantes em pessoas é relatado pela Labat Anderson Inc. (1994), onde a análise de risco foi empregada para determinar um nível de dose aceitável para os vários retardantes de chama comerciais. Esse nível de dose foi comparado com as doses estimadas às quais os bombeiros são expostos. Os resultados da comparação classificaram o risco como insignificante para os retardantes de fogo aprovados pelo Serviço Florestal dos Estados Unidos, geralmente sais de amoníaco. O risco foi considerado significativo apenas quando o retardante de chama entra em contato direto com as pessoas. Alguns casos de irritação da pele e dos olhos foram relatados (Giménez et al, 2004).

19. Com relação aos retardantes de chama de longa duração à base de nitrogênio, não foram encontrados dados na literatura científica sobre esse tipo de retardante para uso como supressor de fogo. Os dados disponíveis dizem respeito apenas aos retardantes nitrogenados usados como aditivos, principalmente em polímeros contendo nitrogênio, tais como poliuretanos e poliamidas (¹*Environmental Health Criteria 192*).

A AVALIAÇÃO

20. Em função da inexistência de legislação específica que estabeleça requisitos, critérios e procedimentos para a realização da avaliação de riscos ambientais associados ao uso de retardantes de chamas no controle de incêndios florestais, trazemos neste documento uma avaliação ambiental preliminar dos produtos apresentados por empresas que atenderam ao convite feito pela DIQUA, no site do Ibama, aos fabricantes de retardantes de chamas destinados ao combate desse tipo de incêndio a apresentarem seus produtos voluntariamente, de modo a subsidiar este Instituto na obtenção de conhecimento a respeito das características técnicas dessa classe de produtos químicos ainda não regulamentada, em relação a aspectos ecotoxicológicos e ambientais. As empresas, os produtos e o número dos processos contendo as informações detalhadas encaminhadas pelas respectivas empresas estão relacionadas no quadro abaixo:

	Empresa	Produto Comercial	Princípio Ativo	Nº Processo SEI
1	Rio Sagrado S.L. (Espanha)	FIRE LIMIT FL-02	Nitrogenado	02001.002474/2018-49

2	Ecoplus Company Comercial Ltda.	FERTIL FIRE	Nitrogenado	02017.001455/2018-26
3	FÁVARO & PERIN Indústria e Comércio Ltda.	HOLD FIRE	Não Classificado	02001.011790/2018-10
4	MEFA Consultoria, Comércio, Importação e Exportação Produtos Químicos Ltda.	MEFA (L, S, BIO-LGE e K)	Organofosforado	02001.011368/2018-56
5	Ecosafety Engenharia de Incêndio Ltda.	F-500	Organofosforado	02015.002225/2018-02

21. O produto F-500 foi desconsiderado uma vez que é indicado para combate a incêndios Classe A (materiais sólidos), Classe B (líquidos inflamáveis) e Classe D (metais pirofóricos), ou seja, é mais apropriado para o combate de incêndios industriais e urbanos do que para incêndios florestais, apesar de poder ser eficiente também no campo. Ademais, os resultados de estudos ecotoxicológicos apresentados na Ficha de Segurança do produto demonstram que ele é muito tóxico ($1 \text{ mg/L} \leq \text{CL}_{50} < 10 \text{ mg/L}$) para algas, microcrustáceos e peixes.

22. Visto que a maior parte dos estudos apresentados pelas empresas está relacionada à saúde humana, é desejável que seja realizada uma avaliação dos mesmos pelo Ministério da Saúde, considerando que as empresas consultadas se manifestaram favoráveis ao compartilhamento dos dados com aquela instituição, em resposta a consulta específica realizada pelo Ibama.

23. Vale ressaltar que esta avaliação preliminar dos documentos apresentados não levou em conta os ensaios de verificação de eficiência do produto no combate a incêndios florestais, cuja avaliação cabe exclusivamente ao Prevfogo e não a esta Coordenação. Atentamos apenas para os dados sobre a segurança da formulação em relação a aspectos ecotoxicológicos e ambientais.

24. Quando informações essenciais para o conhecimento do produto não foram apresentadas inicialmente, foram enviados ofícios solicitando complementação de dados, nem sempre atendidos integralmente.

25. Uma vez que a ausência de normas brasileiras regulamentando a avaliação e utilização de retardantes de chamas não impõe a obrigatoriedade de complementação de dados importantes por parte das empresas consultadas, foi decidido que a avaliação preliminar seria concluída com os dados disponibilizados voluntariamente, mesmo havendo lacunas de conhecimento a respeito dos produtos.

26. De modo geral, considerando todos os produtos apresentados, dentre as lacunas mais importantes podemos citar: 1) declaração de composição qualitativa-quantitativa incompleta, faltando n° CAS, função de cada componente na formulação, ausência de limites mínimos ou máximos; 2) ausência de certificado de análise química comprovando a ausência de substâncias de importância ambiental e toxicológica, tais como metais pesados e substâncias orgânicas halogenadas; 3) ausência de relatórios de ensaios ecotoxicológicos importantes para a caracterização do perigo do produto, como por exemplo, ensaios de toxicidade aguda com organismos de diversos níveis tróficos (algas, microcrustáceos peixes, minhocas, aves, abelhas), influência do produto nos ciclos biogeoquímicos do Carbono e Nitrogênio, 4) relatório das propriedades físico-químicas do produto, tais como, solubilidade em água, pH, densidade, coeficiente de partição octanol/água (log Kow), fator de bioconcentração (FBC), fotólise, hidrólise, pressão de vapor, constante de Henry, que podem prever o comportamento da substância nos compartimentos ambientais bem como na exposição dos organismos, e 5) quantidade máxima de produto a ser aplicada por unidade de área (L/ha).

27. Para ter conhecimento se os produtos apresentados já foram avaliados ambientalmente ou se passaram por algum processo de registro e estão em uso em outros países, foi solicitado às empresas que enviassem ao Ibama documentos que comprovem a autorização para utilização do produto já obtida em outros países.

28. As empresas que forneceram as informações mais completas, até o fechamento deste parecer, a respeito de seus produtos foram a Rio Sagrado e a Ecoplus Company, proprietárias das marcas comerciais Fire Limit FL-02 e Fertil Fire, respectivamente, as quais são apresentadas a seguir.

O PRODUTO FIRE LIMIT FL-02

29. É fabricado pela empresa Rio Sagrado S.L., exclusivamente na Espanha, no endereço: Polígono as Gandaras, parcela 204. C.P. 36400 – Porriño/ Pontevedra/ Espanha, de acordo com os documentos apresentados.

30. O produto é classificado como um retardante de longo prazo, nitrogenado, com efeito extintor, para aplicação em incêndios florestais por meios aéreos e terrestres. A sua forma de apresentação é um líquido concentrado que é diluído em água antes do seu carregamento nos meios de aplicação. Algumas de suas características básicas estão apresentadas no quadro abaixo:

Forma:	Líquida	Viscosidade:	Aprox. 200 cP
Cor:	Vermelho esbranquiçado	Dosagem de mistura:	10% (1 parte FL-02 + 9 partes de água)
Odor:	Suave ou inodoro	Validade:	24 meses
pH (a 20 C°):	6 - 7	Densidade (a 20 C°):	Aprox. 1,4 g/cm ³

31. Segundo a Declaração de composição quali-quantitativa apresentada pela Rio Sagrado, os componentes presentes em maior quantidade na formulação do Fire Limit FL-02 são a argila modificada e a água ionizada, ambos não identificados por n° CAS. Também não foi apresentado o n° CAS do componente identificado como “organonitrogenados”, que pode compor até 20% da formulação. Da mesma forma, não foi possível identificar qual componente é utilizado como corante nessa formulação. Por outro lado, vale ressaltar que, de acordo com o Informe 17-0444 (26/09/2017) produzido pelo Centro de Apoio Científico e Tecnológico à Investigação (CACTI) – Universidade de Vigo (Espanha), o FL-02 é um produto à base de compostos nitrogenados, que **não** contém na sua formulação polifosfatos amônicos, compostos orgânicos halogenados e metais pesados, com os seguintes resultados analíticos:

Cinzas:	18-20 %
Nitrogênio:	15-17 %
Halógenos:	Cloro < 0,1%. Bromo < 0,01 %
Polifosfatos (P₂O₅):	< 0,2 %
Metais pesados:	Cd, Cr, Pb e Hg – não detectados

32. Quanto aos aspectos de toxicidade, os estudos apresentados indicam que o produto é biodegradável e apresenta baixa toxicidade para seres humanos e para algumas espécies representativas do ecossistema aquático (microcrustáceos e peixes). Ao se confrontar os resultados desses estudos com os valores de referência adotados pelo Ibama no sistema de avaliação e classificação de agrotóxicos quanto ao potencial de periculosidade ambiental, para classificação comparativa do produto retardante de chama, quanto ao perigo, uma vez que não há regulamentação e sistema de avaliação definido para esse tipo de produto químico, o retardante de chama FL-02 foi classificado como pouco tóxico e pouco persistente, conforme os parâmetros indicados abaixo:

Resultados Estudos FL-02	Classificação Agrotóxicos
Biodegradabilidade 28 dias (CO₂): > 25% – Concentração 50 mg COT/L > 25% – Concentração 150 mg COT/L	Classe IV – Pouco Persistente
Toxicidade Dérmica para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 2.000 mg/Kg	Classe III – Medianamente Tóxico
Irritação Ocular em Coelhos: Pontuação Irritação: zero	Classe IV – Pouco Tóxico
Teste de Opacidade e Permeabilidade em Córnea Bovina (BCOP) – in vitro Pontuação Irritação: 8,74.	–
Toxicidade Oral para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Oral (14 dias) > 2.000 mg/Kg	Classe IV – Pouco Tóxico
Toxicidade para peixes (Brachydarío rerio): CL ₅₀ (96 h) > 100 mg/L	Classe IV – Pouco Tóxico
Toxicidade para microcrustáceos (Daphnia magna): CL ₅₀ (48 h) >100 mg/L	Classe IV – Pouco Tóxico

33. Foram também apresentados pela Rio Sagrado S.L. estudos realizados com a formulação denominada LICET, versão mais antiga do Fire Limit FL-02. No que se refere à forma de apresentação do produto, ao se comparar os resultados dos estudos da formulação antiga Licet com os da nova formulação FL-02, é possível concluir que não houve incremento na toxicidade ou redução na biodegradabilidade do produto decorrente da mudança na formulação.

Comparação de Resultados			
FIRE LIMIT FL-02 (formulação atual)	Classificação Agrotóxicos	LICET F (formulação antiga)	Classificação Agrotóxicos
Corrosividade: Cobre = 0,004 mm/ano, Latão = 0,090 mm/ano, Aço Inoxidável = 0,002, Ferro = 0,090 mm/ano e Alumínio = 0,009 mm/ano.	–	Corrosividade: Cobre= 0,0699 mm/ano, Latão = 0,0763 mm/ano, Aço Inoxidável não mostrou corrosão. Ferro = 0,0415 mm/ano e Alumínio = 0,1350 mm/ano.	–
Biodegradabilidade 28 dias: > 25% – Concentração 50 mg COT/L > 25% – Concentração 150 mg COT/L	Classe IV – Pouco Persistente	Biodegradabilidade 28 dias: > 25% – Em pó > 25% – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Persistente
Toxicidade Dérmica para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 2.000 mg/Kg	Classe III – Medianamente Tóxico	Toxicidade Dérmica para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 1.000 mg/Kg – Em pó DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 4.000 mg/Kg – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Tóxico
Irritação Ocular em Coelhos: Pontuação Irritação: zero. Não foram observados sinais clínicos significativos de toxicidade e nem mortalidade.	Classe IV – Pouco Tóxico	Irritação Ocular em Coelhos: Produziu irrite, hiperemia, edema e secreção conjuntivais em 3/3 dos olhos testados. Todos os sinais retornaram ao normal após 72 h.	Classe III – Medianamente Tóxico
Toxicidade Oral para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Oral (14 dias) > 2.000 mg/Kg	Classe IV – Pouco Tóxico	Toxicidade Oral para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Oral (14 dias) > 500 mg/Kg – Em pó DL ₅₀ Oral (14 dias) > 2.000 mg/Kg – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Tóxico
Toxicidade para peixes (Brachydariorerio): CL ₅₀ (96 h) > 100 mg/L	Classe IV – Pouco Tóxico	Toxicidade para peixes (Danio rerio): CL ₅₀ (96 h) > 100 mg/L – produto em pó	Classe IV – Pouco Tóxico
Toxicidade para microcrustáceos (Daphnia magna): CL ₅₀ (48 h) > 100 mg/L	Classe IV – Pouco Tóxico	Toxicidade para microcrustáceos: Não realizado.	–
Toxicidade para minhocas: Não realizado.	–	Toxicidade para minhocas (Eisenia foetida): CL ₅₀ (14 dias) > 1.000 mg/Kg solo.	Classe IV – Pouco Tóxico

34. Quanto à apresentação ao Ibama de autorização para utilização do produto FL-02 já obtida em outros países, a empresa alegou que o produto já foi usado em Portugal e na Espanha e que a permissão de uso foi concedida com base no resultado das análises laboratoriais supracitadas. Por outro lado, a empresa apresentou informes sobre testes de eficiência, realizados em campo nas cidades de Lourizán/ Pontevedra/ Espanha e em Vila Nova de Gaia/ Portugal, com conclusões favoráveis quanto à eficiência do produto por parte de autoridades locais. Todavia, não foi apresentado documento governamental emitido por algum dos dois países concedendo autorização para uso ou licença emitida por algum órgão ambiental.

35. Após solicitação feita pelo Ibama para que a Rio Sagrado apresentasse documento do governo chileno que autorizou a utilização do Fire Limit naquele país, foram encaminhados como resposta o documento Doc SEI n° 2532142, referente às exigências documentais do governo chileno para compra do produto, e o documento Doc SEI n° 2532229, onde constam as respostas para as exigências, cujos dados estão baseados em todos os documentos já apresentados ao Ibama. O Doc SEI n° 2532760, trata do processo de licitação para compra do produto pela Corporação Florestal Nacional do Chile - CONAF. Dessa forma, o produto foi avaliado apenas para um processo de compra pública de um produto retardante de chamas, tendo de comprovar sua baixa

toxicidade e periculosidade ambiental como requisitos de um edital de licitação e não para obtenção de uma licença ambiental ou autorização para uso.

O PRODUTO FERTIL FIRE

36. O produto químico Fertil Fire pertence à empresa Ecoplus Company Comercial Ltda. (CNPJ: 10.829.871/0001-76), localizada em Curitiba/PR, e é fabricado na planta da empresa Calplan Indústria e Comércio de Calcário Ltda. (CNPJ: 77.690.493/0001-63), situada à Rodovia dos Minérios, Km 16, s/nº, Almirante Tamandaré/PR, CEP: 83.507-000, de acordo com os documentos apresentados.

37. O produto é classificado como um retardante de longo prazo, nitrogenado, com efeito bloqueador e extintor, para aplicação em incêndios florestais por meios aéreos e terrestres. A sua forma de apresentação é sólida, em forma de pó ou granulada, que é diluído em água antes do seu carregamento nos meios de aplicação. Algumas de suas características básicas estão apresentadas no quadro abaixo:

Forma:	Pó e/ou Granulado	Viscosidade:	Aprox. 200 cP
Cor:	Branco, bege ou avermelhado	Dosagem de mistura:	10% a 20% (13 Kg produto + 87 L de água, equivalente a 100 L de solução)
Odor:	Inodoro	Confiabilidade e Segurança:	15 dias sem chuvas
pH (a 20 C°):	5,5 – 7,5	Quantidade/ m²:	1,5 – 2,5 L/ m ²
Densidade (a 20 C°):	0,85 a 1,00 g/cm ³	Faixa de aplicação (barreira):	4 a 8 m

38. Segundo a Declaração de composição quali-quantitativa apresentada pela Ecoplus, os componentes presentes em maior quantidade na formulação do Fertil Fire são a uréia e sulfato de amônio. Existem duas formulações do produto, uma destinada à aplicação terrestre (tipo F) e outra destinada à aplicação aérea (tipo A). As duas formulações apresentam os mesmos componentes, no entanto, o teor de “Goma Guar”, uma fibra solúvel utilizada como espessante, varia entre as duas formulações de acordo com a finalidade de dar maior ou menor viscosidade, garantindo o agrupamento das partículas, evitando perda por arrasto e assegurando a fixação do produto ao substrato. Também não foi possível identificar o corante utilizado na formulação. Questionada quanto a apresentação de ensaios analíticos que comprovem a inexistência de polifosfatos amônicos, metais pesados e compostos orgânicos halogenados na composição do produto Fertil Fire, a empresa alegou que não possui estudos analíticos realizados, mas que os dados de toxicidade apresentados por si só confirmam a ausência dessas substâncias. A empresa afirma também que os produtos LICET F e FERTIL FIRE apresentam a mesma formulação.

39. Quanto aos aspectos de toxicidade, os estudos apresentados indicam que o produto é biodegradável e apresenta baixa toxicidade para seres humanos, peixes e minhocas. Ao se confrontar os resultados desses estudos com os valores de referência adotados pelo Ibama no sistema de avaliação e classificação de agrotóxicos quanto ao potencial de periculosidade ambiental, para classificação comparativa do produto retardante de chama, quanto ao perigo, uma vez que não há regulamentação e sistema de avaliação definido para esse tipo de produto químico, o retardante de chama Fertil Fire seria classificado como pouco tóxico e pouco persistente, conforme os parâmetros indicados abaixo:

Resultados Estudos Licet F = Fertil Fire	Classificação Agrotóxicos
Biodegradabilidade 28 dias (CO₂): > 25% – Em pó > 25% – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Persistente
Toxicidade Dérmica para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 1.000 mg/Kg – Em pó DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 4.000 mg/Kg – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Tóxico
Irritação Ocular em Coelhos: Produziu irrite, hiperemia, edema e secreção conjuntivais em 3/3 dos olhos testados. Todos os sinais retornaram ao normal após 72 h.	Classe III – Medianamente Tóxico

Resultados Estudos Licet F = Fertil Fire	Classificação Agrotóxicos
Toxicidade Oral para ratos (<i>Wistar Hannover</i>): DL ₅₀ Oral (14 dias) > 500 mg/Kg – Em pó DL ₅₀ Oral (14 dias) > 2.000 mg/Kg – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Tóxico
Toxicidade para peixes (<i>Danio rerio</i>): CL ₅₀ (96 h) > 100 mg/L – produto em pó	Classe IV – Pouco Tóxico
Toxicidade para minhocas (<i>Eisenia foetida</i>): CL ₅₀ (14 dias) > 1.000 mg/Kg solo.	Classe IV – Pouco Tóxico

40. Quanto à apresentação ao Ibama de autorização para utilização do produto Fertil Fire já obtida em outros países, foi respondido que o produto até o momento não foi comercializado para outros países pela Ecoplus Company, e foi mencionada a realização de demonstrações da eficiência do produto em Vila Nova de Gaia/ Portugal, ainda com o nome de Licet F (Doc SEI nº 2503970).

41. A Ecoplus alega ainda que o produto já foi utilizado pelo Prevfogo no combate a incêndios ocorridos na Chapada Diamantina/BA e em Imperatriz/MA, onde foi possível ser verificada na prática a efetividade do produto na extinção de incêndios. Após esta única comercialização, o produto não foi mais comercializado (Doc SEI nº 2503970).

CONCLUSÕES

42. Face à inexistência no Brasil de regulamentação para uso de retardantes em incêndios florestais, todos os dados enviados para avaliação preliminar do Ibama foram concedidos voluntariamente pelas empresas, não sendo possível se fazer exigências de complementação, mediante a realização de novos estudos físico-químicos e ecotoxicológicos para complementação da avaliação ambiental dos produtos.

43. No entanto, considerando-se que o FL-02 e Fertil Fire não fazem parte dos grupos de retardantes de maior preocupação ambiental e toxicológica, como os orgânicos halogenados (bromados e clorados) e não contém em sua composição Poluentes Orgânicos Persistentes – POPs, tais como Hexabromociclododecano (HBCD), ou metais pesados e polifosfatos amônicos, de acordo com as declarações das composições apresentadas, considerando-se ainda que ambos os produtos têm reconhecida solubilidade em água, infere-se que esses produtos não sejam altamente tóxicos, bioacumulativos e muito persistentes no meio ambiente.

44. No mesmo sentido, os estudos de ecotoxicidade apresentados, revelam toxicidade baixa e reduzido potencial de periculosidade dos produtos em relação à exposição aguda para microcrustáceos e peixes (Fire Limit FL-02) e para minhocas (Licet / Fertil Fire).

45. Aplicando-se os resultados dos estudos obtidos até o momento nas tabelas de classificação de agrotóxicos utilizadas pelo Ibama e Anvisa (Anexos 1 e 2 deste parecer) e na classificação da União Europeia do REACH – *Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals*, para Persistência, Bioacumulação e Toxicidade (Anexo 3 deste parecer), pode-se concluir que os produtos avaliados podem ser classificados como tendo baixa persistência e baixa toxicidade.

Comparação de Resultados			
FIRE LIMIT FL-02	LICET F /FERTIL FIRE	Classificação Agrotóxicos: Ibama /Anvisa (Anexos 1 e 2)	Classificação União Européia – REACH (Anexo 3)
Biodegradabilidade 28 dias: > 25% – Concentração 50 mg COT/L > 25% – Concentração 150 mg COT/L	Biodegradabilidade 28 dias: > 25% – Em pó > 25% – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Persistente	Baixa Persistência
Toxicidade Dérmica para ratos (<i>Wistar</i>	Toxicidade Dérmica para ratos (<i>Wistar Hannover</i>):	<u>Fire Limit FL-02:</u>	Baixa Toxicidade

<i>Hannover</i>): DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 2.000 mg/Kg	DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 1.000 mg/Kg – Em pó DL ₅₀ Dérmica (14 dias) > 4.000 mg/Kg – Em solução 175 g/L	Classe III – Medianamente Tóxico <u>Licet F / Fertil Fire</u> : Classe IV – Pouco Tóxico	
Irritação Ocular em Coelhos: Pontuação Irritação: zero. Não foram observados sinais clínicos significativos de toxicidade e nem mortalidade.	Irritação Ocular em Coelhos: Produziu irrite, hiperemia, edema e secreção conjuntivais em 3/3 dos olhos testados. Todos os sinais retornaram ao normal após 72 h.	<u>Fire Limit FL-02</u> : Classe IV – Pouco Tóxico <u>Licet F / Fertil Fire</u> : Classe III – Medianamente Tóxico	–
Toxicidade Oral para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Oral (14 dias) > 2.000 mg/Kg	Toxicidade Oral para ratos (Wistar Hannover): DL ₅₀ Oral (14 dias) > 500 mg/Kg – Em pó DL ₅₀ Oral (14 dias) > 2.000 mg/Kg – Em solução 175 g/L	Classe IV – Pouco Tóxico	Baixa Toxicidade
Toxicidade para peixes (Brachydariorerio): CL ₅₀ (96 h) > 100 mg/L	Toxicidade para peixes (Danio rerio): CL ₅₀ (96 h) > 100 mg/L – produto em pó	Classe IV – Pouco Tóxico	Baixa Toxicidade
Toxicidade para microcrustáceos (Daphnia magna): CL ₅₀ (48 h) > 100 mg/L	Toxicidade para microcrustáceos: Não realizado.	Classe IV – Pouco Tóxico	Baixa Toxicidade
Toxicidade para minhocas: Não realizado.	Toxicidade para minhocas (Eisenia foetida): CL ₅₀ (14 dias) > 1.000 mg/Kg solo.	Classe IV – Pouco Tóxico	Baixa Toxicidade

46. Com os dados disponíveis, não é possível inferir o resultado da utilização repetida deste produto no meio ambiente e quais danos isso pode acarretar aos ecossistemas terrestre e aquático. Porém, levando-se em conta que os produtos se degradam em mais de 80% em 28 dias, com base nessa baixa persistência no ambiente é possível afirmar que a exposição crônica não seja muito relevante na avaliação ambiental do produto.

47. De acordo com os dados enviados pela Rio Sagrado, não foi obtido nenhum documento oficial tal como licença ambiental ou autorização de uso emitida pelos governos português, espanhol e chileno permitindo oficialmente a utilização de retardantes de chama, visto que parece não existir uma sistemática de avaliação toxicológica e ambiental estabelecida para esses produtos em outros países.

48. Faz-se necessário esclarecer a relação entre as empresas Rio Sagrado S.L. (Espanha) proprietária do produto Fire Limit FL-02 e a Rio Sagrado Industrial Química Ltda. (Brasil), patrocinadora dos estudos realizados com o produto Licet F, cujo sócio se declara também proprietário da Ecoplus Company Comercial Ltda, proprietária do produto Fertil Fire.

RECOMENDAÇÕES

49. Sabendo-se da intenção de uso pelo Prevfogo de retardantes de chama no combate a incêndios florestais no período de seca severa e considerando-se a utilização do produto potencialmente poluente cujos dados sobre comportamento nos compartimentos ambientais (ar, água, solo, sedimentos) não são conhecidos e cujos dados sobre a ecotoxicidade ainda são incipientes, recomenda-se as seguintes precauções na utilização desses produtos:

50. Optar por retardantes orgânicos à base de nitrogênio em detrimento dos organofosforados, visto que estes últimos parecem ter toxicidade mais elevada já relatada em diversos estudos.

Todavia, o fato de não terem sido encontrados estudos com retardantes de chama nitrogenados não implica que não apresentem riscos ecotoxicológicos. Por serem formulações mais novas talvez ainda não tenha havido tempo suficiente para avaliação dos impactos ambientais dessas substâncias;

51. Exigir a apresentação da composição qualitativa quantitativa completa do produto retardante que participar de processo de compra pública promovida pelo Prevfogo ou exigir declaração da empresa que seu produto não contém ferrocianeto de sódio (YPS) e polifosfatos de amônio, bem como exigir que os corantes presentes sejam aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sendo que a relação dos corantes permitidos pela referida Agência para alimentos, medicamentos e cosméticos está disponível no anexo deste parecer (Doc SEI nº 2676813);

52. Mesmo optando pelos produtos nitrogenados, utilizar o retardante apenas em último caso, quando outros meios de combate a incêndios forem ineficientes, seja por escassez de recursos hídricos ou quando o local não permitir fácil acesso para o combate direto das chamas;

53. Nunca reduzir a diluição especificada para o produto, seguindo sempre as recomendações do fabricante para aplicação do retardante de chamas, uma vez que o aumento da concentração desses produtos parece diminuir a biodegradação do mesmo e aumentar a toxicidade para organismos aquáticos, principalmente em corpos hídricos sem correnteza;

54. Evitar aplicação do produto em Áreas de Preservação Permanente (Lei 12.651/2012), reduzindo assim o risco de contaminação de ecossistemas aquáticos e de possíveis locais para captação de água ou pesca para consumo humano. Dessa forma, evitar aplicação de retardantes de chama nas faixas marginais de qualquer curso d'água natural perene e intermitente, desde a borda da calha do leito regular, em largura mínima conforme quadro abaixo:

Porte do corpo hídrico	Distância mínima para aplicação de produtos retardantes de chama
Cursos d'água de menos de 10 (dez) metros de largura	30 (trinta) metros
Cursos d'água que tenham de 10 (dez) a 50 (cinquenta) metros de largura	50 (cinquenta) metros
Cursos d'água que tenham de 50 (cinquenta) a 200 (duzentos) metros de largura	100 (cem) metros
Cursos d'água que tenham de 200 (duzentos) a 600 (seiscentos) metros de largura	200 (duzentos) metros
Cursos d'água que tenham largura superior a 600 (seiscentos) metros	500 (quinhentos) metros
Áreas no entorno dos lagos e lagoas naturais	100 (cem) metros, em zonas rurais
	50 (cinquenta) metros, corpo d'água com até 20 (vinte) hectares de superfície (zonas rurais)
	30 (trinta) metros, em zonas urbanas

55. Evitar a geração de deriva para áreas não-alvo da aplicação aérea e, no momento da aplicação, considerar sempre fatores críticos como velocidade do vento, proximidade de corpos hídricos, quantidade de produto necessário;

56. Na aplicação aérea, atentar para a viscosidade do produto utilizado e a altura mínima requerida para aplicação por aeronave, priorizando aeronaves que voem mais baixo. Fluidos de baixa viscosidade quando derramados de altitude elevada, tendem a atomizar e assim não atingem o alvo em concentração suficiente para debelar o fogo. Líquidos supressores de fogo com alta viscosidade, 1500 centipoises (cP), por exemplo, quando derramados de alturas substanciais, tendem a se manterem juntos, podendo atingir uma área específica com uma concentração suficiente para ser efetiva (Brooks et al., 1978). Vale ressaltar que os dois produtos aqui relatados (Fire Limit FL-02 e Fertil Fire) apresentam viscosidade por volta de 200 cP;

57. Documentar a ocorrência de reações adversas sobre a fauna sempre que for identificada a morte de animais em áreas próximas ao local de aplicação do retardante de chama, não atingidas pelo incêndio;

58. Realizar o georreferenciamento de todos os locais onde o retardante de chama for aplicado, registrando a respectiva data da aplicação, quantidade de produto utilizada, tamanho da área aplicada (em hectares), e instituir a suspensão do consumo de água, pesca, caça e consumo de frutas e vegetais na região exposta ao produto pelo prazo de 40 dias, considerando que os produtos se degradam em cerca de 80-90% em 28 dias.

59. Promover o monitoramento dos locais georreferenciados por 6 meses, pelo menos, de forma a identificar algum dano ambiental decorrente da aplicação do retardante de chama;

60. Promover a realização de análise química para investigar os teores do retardante em matrizes ambientais, tais como água superficial, solo, sedimento, peixes e frutas, com coletas realizadas após 30 dias da aplicação do produto;

61. Em caso de aplicação do produto em terras indígenas ou próximo a locais populosos, informar à população da área sobre os possíveis riscos do consumo de água e alimentos provenientes do local nos 40 dias seguintes à aplicação do retardante de chama;

62. Interromper imediatamente a aplicação e o uso do retardante em caso de aparecimento de sinais de intoxicação nos combatentes aplicadores do produto, na população residente próxima ao local de aplicação, ou na fauna da região;

64. Buscar pareceria de especialistas da área química com experiência na área de toxicologia ambiental, em universidades e centros de pesquisa do país, para realizar pesquisa científica e revisão bibliográfica sobre retardantes de chama de forma a se obter dados para subsidiar a regulamentação dessa classe de produtos químicos no Brasil e apontar quais estudos e documentos seriam mais relevantes para a avaliação ambiental dos mesmos;

65. Quanto a questões de segurança ocupacional, solicitar ao fabricante do retardante de chama a ser utilizado pelo Prevfogo a Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ, onde constará os Equipamentos de Proteção Individual - EPIs recomendados e as medidas a serem adotadas em caso de acidente com o produto.

66. Em incêndios florestais em área de difícil acesso, utilizar retardantes de chama preferencialmente em aceiros preventivos, de forma a evitar o uso excessivo de produtos químicos principalmente em áreas de proteção ambiental. Parizzotto et al., (2008), propõem larguras mínimas definidas para aceiros em função da declividade do terreno, conforme tabela abaixo:

Declividade (%)	Largura Mínima (m)
00 a 15	05
16 a 25	10
26 a 35	15
36 a 45	25
≥ 46	35

67. Finalizando, com base na análise descrita e considerando a inexistência de objeção legal que impeça a utilização do produto, recomendamos o uso restrito do retardante de chama à base de nitrogênio, de acordo com as recomendações descritas acima, até que seja regulamentado o registro e uso dessa classe de substâncias no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pieroni, M.C., Leonel, J., Fillmann, G. **Retardantes de chama bromados: uma revisão**. Quim. Nova, Vol. 40, No. 3, 317-326, 2017.
- 1. *Environmental Health Criteria* 192. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc192.htm>, acessada em Junho 2018.
- Waijers, S. L.; Kong, D.; Hendriks, H. S.; de Wit, C. A.; Cousins, I. T.; Westerink, R. H. S.; Leonards, P. E. G.; Kraak, M. H. S.; Admiraal, W.; de Voogt, P.; Parsons, J. R. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. Whitacre, D. M. ed.; Springer: New York, 2013, Cap. 1.
- Rauert, C.; Harner, T.; Schuster, J. K.; Quinto, K.; Fillmann, G.; Castillo, L. E.; Fentanes, O.; Ibarra, M. V.; Miglioranza, K. S.; Rivadeneira, I. M.; Pozo, K.; Puerta, A. P.; Zuluaga, B. H. A.; *Sci. Total Environ.* 2016, *Article in press*. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.229.
- Batista, A.C.; Martini, A., Pereira, J.F. e Ferreira, J. **Avaliação da eficiência de um retardante de longa duração, à base de polifosfato amônico, em queimas controladas em condições de laboratório**. *Sci. For.*, Piracicaba, v. 36, n. 79, p. 223-229, set. 2008.

- Chandler, C.; Cheney, P.; Thomas, P.; Trabaud, L.; Williams, D. **Fire in forestry**. New York: John Wiley, 1983. v.2, 298 p. (Forest Fire Management and Organization);
- PASTOR FERRER, E. **Contribució a l'estudi dels efectes dels retardants en l'extinció d'incendis forestals**. 2004. 304 p. Tese (Doutorado) - Centre de Estudis del Risc tecnològic, Departament d'Enginyeria Química, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona, Barcelona, 2004.
- Filho, C.M., Martins, M.C., Ribeiro, G.A., Lima, G.S., Cardoso, M.T. Torres, C.M.M.E., Pinto, F.B. **Eficiência de um retardante de fogo de longa duração utilizado em incêndios florestais**. Ciência florestal, Santa Maria, v. 22, n. 2, p. 365-371, abr.-jun., 2012.
- Pardo, J.M. **Retardantes terrestres, uma novidade em La lucha de incêndios forestales**. IV Simpósio Sul Americano sobre prevenção e combate a incêndios florestais e 8ª Reunião técnica conjunta SIF/FUPEF/IPEF sobre controle de incêndios florestais. Belo Horizonte, 2007.
- Maraboti, V.M. **Eficiência de diferentes retardantes de fogo em plantio de eucalipto**. Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira/ UFES, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Florestal. Jerônimo Monteiro-ES, 2015.
- Ribeiro, G.A. et. al. **Eficiência de um retardante de longa duração na redução da propagação do fogo**. Revista Árvore, v. 30, p. 1025-1031, 2006.
- Giménez, A., Pastor, E., Zárate, L., Planas, E., Arnaldos, J. **Long-term forest fire retardants: a review of quality, effectiveness, application and environmental considerations**. International Journal of Wildland Fire, 2004, 13, 1–15.
- Parizotto, W. et al. **Controle dos incêndios florestais pelo corpo de bombeiros de Santa Catarina: diagnóstico e sugestões para seu aprimoramento**. Floresta, Curitiba, pr, v. 38, n. 4, p. 651-662, out./dez. 2008.
- Brooks et al., 1978. **Durable Fire Retardant for Forest and Rangelands**. United States Patent. 4,101,485. Jul.18, 1978.
- Ministério da Saúde – MS. **Portaria Nº 03/MS/SNVS, de 16 de janeiro de 1992**. ANEXO III – Critérios para a classificação toxicológica. http://bvsm.sau.gov.br/bvs/saudefegis/svs1/1992/prt0003_16_01_1992.html. Acessado em 25/06/2018.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. **Relação de corantes permitidos**. <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2954708/Cap%C3%Adulos+do+Volume+1+-+13+Subst%C3%A2ncias+corantes.pdf/30224e2c-f071-46c0-b415-7e3b0db90823>. Acessado em 25/06/2018.
- BRASIL. **Lei Nº 12.651**, de 25 de maio de 2012. Código Florestal Brasileiro. Estabelece normas gerais sobre proteção vegetal, áreas de Preservação Permanente e as áreas de Reserva Legal; e dá outras providências.

ANEXOS

1. Tabelas utilizadas pelo Ibama na avaliação de agrotóxicos para classificação da Persistência, Toxicidade para organismos aquáticos e Toxicidade para organismos do solo:

Biodegradabilidade (quanto ao % CO ₂ em 28 dias)		
%	Classe	Classificação
$X \geq 25$	IV	Pouco Persistente
$10 \leq X < 25$	III	Medianamente Persistente
$1 \leq X < 10$	II	Muito Persistente
$0 \leq X < 1$	I	Altamente Persistente

Organismos Aquáticos		
CL ₅₀ , CE ₅₀ (mg/L)	Classe	Classificação

ou ppm)		
$X \geq 100$	IV	Pouco Tóxico
$10 \leq X < 100$	III	Medianamente Tóxico
$1 \leq X < 10$	II	Muito Tóxico
$0 \leq X < 1$	I	Altamente Tóxico

Organismos do Solo		
CL ₅₀ , CE ₅₀ (mg/Kg ou ppm)	Classe	Classificação
$X \geq 1000$	IV	Pouco Tóxico
$100 \leq X < 1000$	III	Medianamente Tóxico
$10 \leq X < 100$	II	Muito Tóxico
$0 \leq X < 10$	I	Altamente Tóxico

2. Classificação toxicológica utilizada pela Anvisa em função da toxicidade aguda oral, ocular e dérmica – **Portaria N° 03/MS/SNVS, de 16/01/1992:**

Oral Ratos			
DL ₅₀ (mg/Kg)		Classes	Classificação
Líquido	Sólido		
$X > 2000$	$X > 500$	IV	Pouco Tóxico
$200 < X \leq 2000$	$50 < X \leq 500$	III	Medianamente Tóxico
$20 < X \leq 200$	$5 < X \leq 50$	II	Altamente Tóxico
$X \leq 20$	$X \leq 5$	I	Extremamente tóxico

Dérmica Ratos			
DL ₅₀ (mg/Kg)		Classes	Classificação
Líquido	Sólido		
$X > 4000$	$X > 1000$	IV	Pouco Tóxico
$400 < X \leq 4000$	$100 < X \leq 1000$	III	Medianamente Tóxico
$40 < X \leq 400$	$10 < X \leq 100$	II	Altamente Tóxico
$X \leq 40$	$X \leq 10$	I	Extremamente Tóxico

Dérmica (Formulações líquidas e sólidas)		
Efeitos / Sintomas	Classes	Classificação
As formulações que provocam irritação leve ou um escore inferior a 3 (três), segundo o método de Draize e Cols, na pele dos animais testados.	IV	Pouco Tóxico
As formulações que provocam irritação moderada ou um escore igual ou superior a 3 (três) e até 5 (cinco),	III	Medianamente Tóxico

segundo o método de Draize e Cols, na pele dos animais testados.		
As formulações que provocam irritação severa, ou seja, obtenham em escore igual ou superior a 5 (cinco) segundos o método de Draize e Cols na pele de animais testados.	II	Altamente Tóxico
As formulações que provocam ulceração ou corrosão na pele dos animais testados.	I	Extremamente Tóxico

Ocular (Formulações líquidas e sólidas)		
Efeitos / Sintomas	Classes	Classificação
As formulações que não apresentam, de modo algum, opacidade na córnea e aquelas que apresentam irritação leve, reversível dentro de 24 (vinte e quatro) horas, nas mucosas oculares dos animais testados.	IV	Pouco Tóxico
As formulações que não apresentam, de modo algum, opacidade na córnea e aquelas que apresentam irritação reversível dentro de 72 (setenta e duas) horas nas mucosas oculares dos animais testados.	III	Medianamente Tóxico
As formulações que não apresentam, de modo algum, opacidade na córnea, bem como aquelas que apresentam irritação reversível dentro de 7 (sete) dias nas mucosas oculares de animais testados.	II	Altamente Tóxico
As formulações que provocam opacidade na córnea reversível ou não dentro de sete dias ou irritação persistente nas mucosas oculares dos animais testados.	I	Extremamente Tóxico

3. Classificação da União Europeia do REACH – *Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals* para Persistência, Bioacumulação e Toxicidade (BPT) – **European Commission EC No 1907/2006 & 1272/2008:**

Classificação	Persistência	Bioacumulação	Toxicidade
Alta	Não biodegradável prontamente	BCF > 500	DL ₅₀ ≤ 1 mg L ⁻¹
	Ou Solo/Sedimento, Lodo DT ₆₀₊ >28 dias	Log K _{OW} ≥ 4	CE ₅₀ ≤ 1 mg L ⁻¹
	Ou Água (pH 7,0) DT ₇₀₊ >28 dias		CL ₅₀ ≤ 1 mg L ⁻¹

Moderada			$1 \text{ mg L}^{-1} < DL_{50} \leq 10 \text{ mg L}^{-1}$
			$1 \text{ mg L}^{-1} < CE_{50} \leq 10 \text{ mg L}^{-1}$
			$1 \text{ mg L}^{-1} < CL_{50} \leq 10 \text{ mg L}^{-1}$
Baixa	Biodegradável prontamente	$BCF < 500$	$DL_{50} > 10 \text{ mg L}^{-1}$
	Ou Solo/Sedimento, Lodo $DT_{60+} \leq 28$ dias	$\text{Log } K_{OW} < 4$	$CE_{50} > 10 \text{ mg L}^{-1}$
	Ou Água (pH7) $DT_{70} \leq 28$ dias		$CL_{50} > 10 \text{ mg L}^{-1}$
Muito Persistente, Muito Bioacumulativo	$DT_{70} \geq 28$ dias		
	$DT_{50} > 60$ dias (água marinha, fresca ou estuarina)		
	$DT_{50} > 180$ dias (solo, sedimento água marinha, fresca ou estuarina)		
	E um $FBC > 5.000$		
FBC: Fator de bioconcentração. DT: Tempo de dissipação de x% da substância. CE₅₀: concentração que provoca 50% do efeito para a espécie da população teste.		Log K_{OW} – Coeficiente de partição octanol/água. DL₅₀: concentração que provoca 50% de mortalidade para a espécie da população teste.	

À consideração superior.
Atenciosamente,



Documento assinado eletronicamente por **JETER ISAAC ARAUJO PINTO, Analista Ambiental**, em 05/07/2018, às 11:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **CARLOS AUGUSTO MARUCH TONELLI, Coordenador**, em 05/07/2018, às 14:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ibama.gov.br/autenticidade>, informando o código verificador **2642975** e o código CRC **FAF68F8B**.

Product Testing Spain BU
EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN S.L.
C/ De la Font del Carme s/n
08193 Bellaterra (Barcelona)
Campus de la UAB
Tlf. 93 5202054 Fax: 93 567 20 01

Página 1 de 8

Nº INFORME: 11539/15/2573

NFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

DATOS IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE

NOMBRE: RIO SAGRADO S.L Att. Eduardo Rodrigues do Carmo

DIRECCIÓN: P.I As Gandaras Parcela 204

LOCALIDAD: 36400 Porriño (Pontevedra)

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

PRODUCTO: Determinación de la Biodegradabilidad según OCDE 302B

S/REFERENCIA: 14006995

OBSERVACIONES:

F. RECEPCIÓN: 16/02/15

LAB ENSAYOS FÍSICOS Y QUÍMICOS

Inicio: 20/03/15

Final: 21/04/15

ASUNTO SOLICITADO

Determinación de la Biodegradabilidad según la norma **OCDE 302B** de una muestra líquida remitida por el
petionario.

La muestra está referenciada como **MUESTRA FL-02.**

La empresa Eurofins ha referenciado esta muestra como 14006995.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

Product Testing Spain BU
EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN S.L.

C/ De la Font del Carme s/n
08193 Bellaterra (Barcelona)
Campus de la UAB
Tif. 93 5202054 Fax: 93 567 20 01

Página 2 de 8

Nº INFORME: 11539/15/2573

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Resumen

Se ha realizado la Determinación de la Biodegradabilidad después de 28 días, de la muestra referenciada 14006995. Para la Determinación de la Biodegradabilidad se ha seguido el método operativo MO 18 basado en el método OCDE 302B (1992).

La Biodegradación se define como la descomposición de un compuesto orgánico por la acción biológica de microorganismos, que tiene como resultado la desaparición de la estructura molecular original y la formación de moléculas orgánicas más pequeñas. Los resultados se expresan en porcentaje de biodegradación a los 28 días.

- Se ha determinado la Biodegradabilidad a dos concentraciones de COT de la muestra presentada: 50 y 150 mg COT/L

El resultado obtenido en este ensayo indica que la muestra 15000980 presenta una biodegradación del 93% a la concentración inicial de 50 mg COT/L, y una biodegradación del 87% a la concentración de 150 mg COT/L, a los 28 días de ensayo.

Objetivo del Estudio

El objetivo del estudio es determinar la biodegradabilidad de la sustancia o producto de ensayo a los 28 días. Se parte de una concentración conocida de la sustancia de ensayo (50-400mg COT/L) y se realiza el seguimiento mediante el análisis del Carbono Orgánico disuelto Total (COT) a intervalos de tiempo a lo largo de un período de 28 días.

Condiciones de Ensayo

- Duración del ensayo: 28 días
- Temperatura de ensayo: 22 ± 2 °C
- Fotoperiodo: luz difusa
- Descripción del diseño de ensayo:
 - Recipientes de ensayo: matraces cónicos 5 L.
 - Volumen de ensayo utilizado: 2 Litros.
- Nº de recipientes de ensayo por concentración: 1
- Concentración inicial de ensayo:
 - 50 mg/L de COT
 - 150 mg/L de COT

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

- Sustancia de referencia: Dietilenglicol
- Inóculo: 1g materia seca de lodos activados Depuradora urbana/L
- Composición Medio de cultivo:
 - Solución 1: KH_2PO_4 8,5 g/L H_2O
 K_2HPO_4 21,75 g/L H_2O
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 33,4 g/L H_2O
 NH_4Cl 0,5 g/L H_2O
 - Solución 2: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 36,4 g/L H_2O
 - Solución 3: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22,5 g/L H_2O
 - Solución 4: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,25 g/L H_2O

Añadir a 1000 mL de agua desionizada:

solución 1	10 mL
solución 2	1 mL
solución 3	1 mL
solución 4	1 mL

Desarrollo del Ensayo

Se introducen 800 ml de medio mineral en matraces cónicos de 5 litros y se añaden volúmenes suficientes de las soluciones madre de la sustancia (problema y de referencia) para obtener una concentración de sustancia equivalente a la concentración deseada de mgCOT/L.

Teniendo en cuenta que 10,3572 g/L de producto presenta un valor de COT de 92,16mg/L:

- Se realiza una solución del producto de 11,2 g/L para obtener un valor de COT de 50 mg/L
- Se realiza una solución del producto de 33,7 g/L para obtener un valor de COT de 150 mg/L.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Se ajusta el pH a 6,5-8,0.

- Se inoculan los matraces con lodos activados de manera que se obtenga una concentración de 1g materia seca/L.
- Se prepara un control del inóculo con el medio mineral pero sin sustancia problema ni de referencia.
- Todos los matraces se enrasan a 2 L con medio mineral y, después de agitar, se toma una muestra de cada matraz para determinar la concentración inicial del carbono orgánico disuelto total (COT).
- A continuación se ponen los recipientes en aireación continua.
- A lo largo del ensayo se determinan las concentraciones de COT en cada matraz por intervalos de tiempo de 2-3 días, Para cada determinación se toma sólo el volumen mínimo necesario de suspensión problema.
- Antes de tomar las muestras, hay que compensar las pérdidas que se han producido por evaporación del medio de ensayo en los matraces, añadiendo la cantidad necesaria de agua de dilución.
- Antes de tomar las muestras hay que agitar bien el medio de cultivo y asegurarse de que el material que se hubiera adherido a las paredes de los recipientes se disuelve o resuspende.
- Se filtra por membrana inmediatamente después de haber tomado la muestra. Las muestras filtradas son analizadas mediante un analizador de COT.

Resultados

El ensayo se lleva a cabo durante los días 16 de Febrero y 17 de Abril de 2015. Los ensayos que se adjuntan en este informe han sido realizados por nuestro laboratorio colaborador "Centre de Recerca i Innovació en Toxicologia de la UPC" con número de informe 7527/201.15b laboratorio acreditado por el CIDEM de la Generalitat de Catalunya. Inscrito en el registro de laboratorios Agroalimentarios y reconocido por el departamento de Agricultura, Ganadería y Pesca; e inscrito en el registro de laboratorios de Salud Pública Ambiental y Alimentaria de la Generalitat de Catalunya y certificado según UNE-EN-ISO 9001:2001.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Los resultados de Biodegradación (28 días) obtenidos están representados en la tabla 1 y en las siguientes gráficas.

Tiempo	%Biodegradación		
	Dietilenglicol	Muestra	
		50mg/L	150 mg/L
0h	0	0	0
3h	0,7	6,0	0,6
Día 3	3,8	70,6	62,5
Día 5	27,1	76,5	64,7
Día 7	54,6	79,1	66,9
Día 10	79,2	82,3	72,9
Día 12	84,1	86,8	76,5
Día 18	97,0	91,7	84,7
Día 21	100	87,1	84,9
Día 24	100	88,3	85,3
Día 26	100	90,8	86,2
Día 28	100	93,0	87,0

Tabla 1: Porcentajes de biodegradación de la muestra en el transcurso del tiempo

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

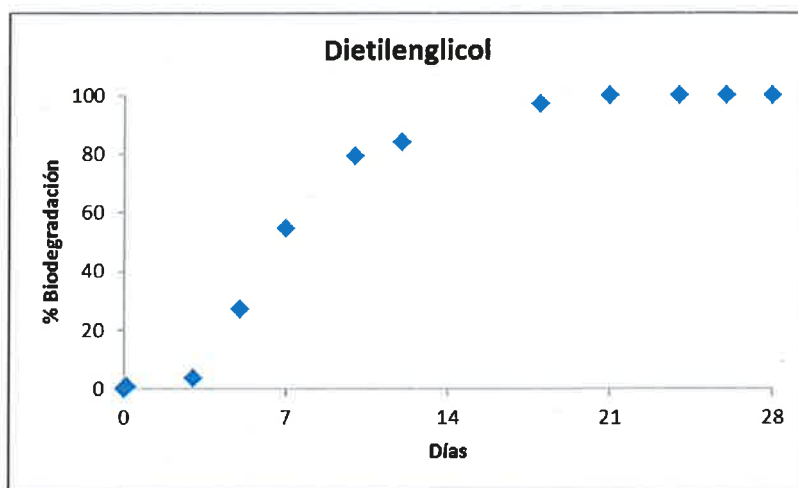
Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

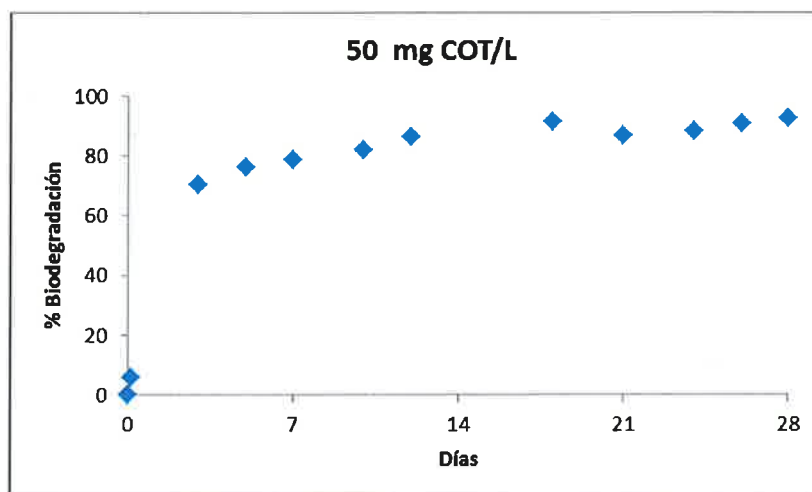
Gráficas:

a) Biodegradación de la sustancia de referencia (Dietilenglicol)



b) Biodegradación de la muestra de ensayo

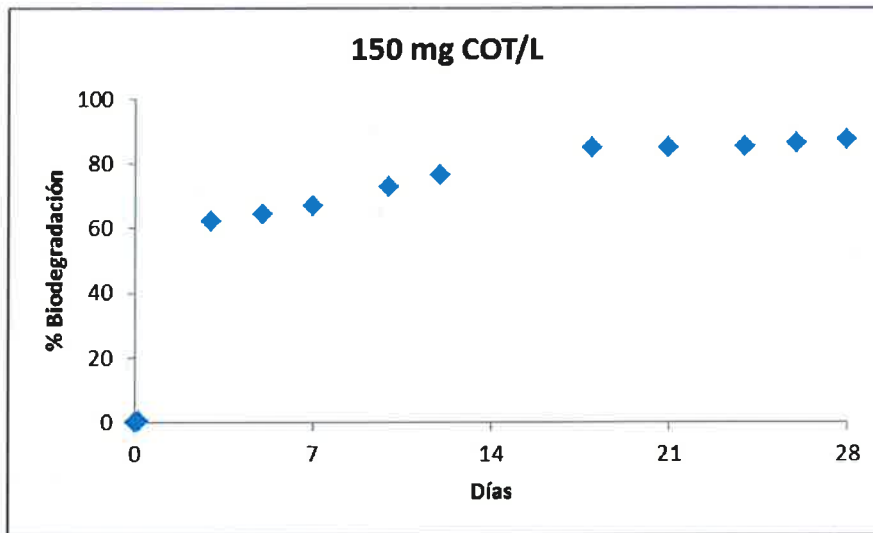
b.1- Concentración inicial de COT: 50 mg/L



La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL**b.2- Concentración inicial de COT: 150 mg/L****Resultado**

El porcentaje de Biodegradación a los 28 días del material presentado con la referencia **FL-02**, es:

Concentración inicial 50 mg COT/L:

Bio_{28 días} (%) = 93 %

Concentración inicial 150 mg COT/L:

Bio_{28 días} (%) = 87 %

Validación

El criterio de validación para este ensayo es:

- La degradación porcentual de la sustancia de referencia alcanza 70% antes de los 14 días.

Referencias

1. OECD Guideline for Testing of Chemicals 302B (1992): "Inherent Biodegradability:Zahn-Wellens/EMPA Test"
- 2.MO 18 v.01 "Biodegradabilidad inherente. Test Zahn-Wellens(EMPA)

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

Product Testing Spain BU
EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN S.L.

C/ De la Font del Carme s/n
08193 Bellaterra (Barcelona)
Campus de la UAB
Tlf. 93 5202054 Fax: 93 567 20 01

Página 8 de 8

Nº INFORME: 11539/15/2573

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

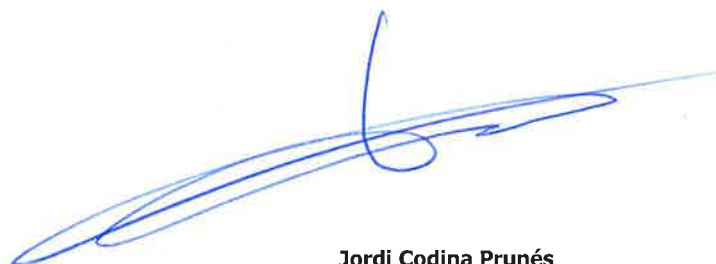
Conclusiones

El estudio consiste en la determinación de la biodegradabilidad, la cual ha sido llevada a cabo según el método operativo **MO 18** basado en el método **OCDE 302B, Prueba Zhan-Wellens**.

La muestra de ensayo **FL-02** presenta una biodegradabilidad del **93%** y del **87%** a las dos concentraciones iniciales de COT ensayadas (50 y 150 mg/L respectivamente) a los 28 días de ensayo.

En la tabla siguiente se resumen las conclusiones :

Muestra (Ref)		% Biodegradación (28 días)
FL-02	50 mg COT/L	93
	150 mg COT/L	87



Jordi Codina Prunés

**Responsable Unidad Confort Ambiental
Bellaterra, 21 de abril de 2015**

Garantía de Calidad de Servicio

EUROFINS, garantiza que este trabajo se ha realizado dentro de lo exigido por nuestro Sistema de Calidad y Sostenibilidad, habiéndose cumplido las condiciones contractuales y la normativa legal.
En el marco de nuestro programa de mejora les agradecemos nos transmitan cualquier comentario que consideren oportuno, dirigiéndose al responsable que firma este escrito, o bien, al Director de Calidad de EUROFINS.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

BSL BIOSERVICE
Scientific Laboratories GmbH
Behringstr. 6/8
82152 Planegg
Germany

Phone +49 (0)89 899 650-0
Fax +49 (0)89 899 650-11



**Irritación ocular aguda / Corrosión en
Conejos para
FIRE LIMIT FL-02**

Report

Version: Final

Fecha finalización estudio: 06 March 2015

BSL BIOSERVICE StudyNo.: 146080

Ciente:
RIOSAGRADO, S.L.
POL.IND. AS GANDARAS
PARCELA 204
36400 PORRIÑO
SPAIN

TRADUCIDO POR EUROFINS

1. Copia de Certificado GLP

Bayerisches Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit



GLP-Bescheinigung/Statement of GLP Compliance (gemäß/according to § 19b Abs. 1 Chemikaliengesetz)

Eine GLP-Inspektion zur Überwachung
der Einhaltung der GLP-Grundsätze
gemäß Chemikaliengesetz bzw. Richt-
linie 2004/9/EG wurde durchgeführt in:

Assessment of conformity with GLP
according to Chemikaliengesetz and
Directive 2004/9/EC at:

Prüfeinrichtung/Test facility

Prüfstandort/Test site

BSL BIOSERVICE
SCIENTIFIC LABORATORIES GMBH
BEHRINGSTRASSE 6-8
82152 PLANEGG

(Unverwechselbare Bezeichnung und Adresse/Unequivocal name and address)

Prüfungen nach Kategorien/Areas of Expertise
(gemäß/according ChemVwV-GLP Nr. 5.3/OECD guidance)

Kategorie 2

Kategorie 3

Kategorie 9*

**Mikrobiologische Sicherheitsprüfungen; Wirksamkeitsprüfungen an Zellkulturen*

Datum der Inspektion/Date of Inspection

(Tag.Monat.Jahr/day.month.year)

03.- 04.07.2012

Die/Der genannte Prüfeinrichtung/Prüfstandort
befindet sich im nationalen GLP-Überwachungs-
verfahren und wird regelmäßig auf Einhaltung der
GLP-Grundsätze überwacht.

The above mentioned test facility/test site is
included in the national GLP Compliance
Programme and is inspected on a regular basis.

Auf der Grundlage des Inspektionsberichtes wird
hiermit bestätigt, dass in dieser Prüfeinrichtung/
diesem Prüfstandort die oben genannten Prüf-
ungen unter Einhaltung der GLP-Grundsätze
durchgeführt werden können.

Based on the inspection report it can be confirmed,
that this test facility/test site is able to conduct the
aforementioned studies in compliance with the
Principles of GLP.

Erlangen, 22.01.2013



Dr. Peter Franke
Leitender Regierungsdirektor

2. Contenido

	page
1. Copia certificado GLP	2
2. Contenidos	3
3. Listado de tablas	4
4. Prefacio	5
4.1. Abreviaturas	5
4.2. General	6
4.3. Personal proyecto	6
4.4. Cronograma	6
5. Garantía de calidad	7
5.1. GLP Cumplimiento	7
5.2. Pautas	7
5.3. Sistema de archivo	7
6. Declaración de Conformidad	9
7. Declaración de aseguramiento de calidad	10
8. Resumen	11
8.1. Resumen de resultados	11
8.2. Conclusión	12
9. Introducción	13
9.1. Justificación selección sistema de ensayo	13
9.2. Justificación selección método de ensayo	13
10.Materiales y métodos	14
10.1. Caracterización del elemento de prueba	14
10.2. Preparación de la muestra	14
10.3. Vehículo	14
10.4. Sistema de ensayo	14
10.4.1. Condiciones de ensayo	15
10.5. Preparación animales	15
10.6. Administración	15
10.7. Nivel de dosis	15
10.8. Periodo de observación	15
10.9. Registro peso	16
10.10.Exámenclínico	16
10.11.Patología	16
10.12.Evaluación de resultados	17
11.Desviaciones del plan de estudio	18
12.Resultados	19
12.1. Signos clínicos	19
12.2. Desarrollo del peso del cuerpo	20
12.3. Patología	21
12.4. LD50corte	22
13.Conclusion	23
14.Distribución del informe	24
15.Referencias	24
15.1. Directrices	24
15.2. Literatura	24
15.3. Interno BSLBIOSERVICE SOPs	24
16.Apéndice: Criterios de clasificación	25

3. Lista de tablas

	Página
Tabla 1: Media de resultados de irritación– (24,48,72-h lectura de datos).....	11
Tabla 2: Sistema grado de clasificación lesión ocular.....	16
Tabla 3: Resultados irritación ocular -Animal No.1.....	19
Tabla 4: Resultados irritación ocular. Animal No.2.....	19
Tabla 5: Resultados irritación ocular. Animal No.3.....	20
Tabla 6: Signos clínicos– Animal No.1.....	20
Tabla 7: Signos clínicos– Animal No.2.....	20
Tabla 8: Signos clínicos– Animal No.3.....	21
Tabla 9: Peso corporal absoluto.....	21

4. Prefacio

4.1. Abreviaturas

Art.	Artikel (<i>Article</i>)
ABS	acrylonitrile-butadiene-styrene
BGBI.	Bundesgesetzblatt (<i>Federal Law Gazette</i>)
C	control
Dipl.-Biol.	Diplom Biologe (<i>BiologyDiploma</i>)
EC	European Commission
EEC	European Economic Community
e.g.	exempli gratia (forexample)
EPA	Environmental Protection Agency
GHS	Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals
GLP	Good Laboratory Practice
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung (<i>company with limited liability</i>)
GV-SOLAS	Gesellschaft für Versuchstierkunde (<i>Society for Laboratory Animal Science</i>)
NaCl	cloruro sódico
Nsf	no specific findings
NZW	New Zealand White
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
OPPTS	Office of Prevention,Pesticides and Toxic Substances
QAU	Quality Assurance Unit
SOPs	Standard OperatingProcedures
SPF	specific-pathogen free
T	muestra de ensayo
TVT	Tierärztliche Vereinigungfür Tierschutz (<i>VeterinaryAssociation forAnimal Welfare</i>)

4.2. General

Cliente: RIOSAGRADO,S.L.
POL.IND. AS GANDARAS
PARCELA 204
36400 PORRIÑO
SPAIN

Monitor del estudio MrEduardo Rodrigues DoCarmo

Ensayo: BSL BIOSERVICE
Scientific Laboratories GmbH
Behringstraße 6/8
82152 Planegg
Germany

BSL BIOSERVICE Studio No.: 146080

Muestra de ensayo: FIRE LIMIT FL-02

Título: Acute Eye Irritation/Corrosionin theRabbitwith
FIRE LIMIT FL-02

4.3. Personal proyecto

Director estudio: Dr.SandraSchmid

Responsable Dr.Angela Lutterbach
Dr.KatrinWitschital

Head of GLP

Unidad de aseguramiento de calidad: Dipl.-Biol.UweHamann

4.4. Cronograma

Recepción muestra de ensayo: 31 Octubre 2014
Fecha inicio ensayos: 03 Febrero 2015
Fecha inicio experimento: 16 Febrero 2015
Fecha final experimento: 26 Febrero 2015

5. Garantía de calidad

5.1. Cumplimiento GLP

Este estudio fue elaborado según los requisitos para cumplir con:

Chemikaliengesetz ("Chemicals Act") of the Federal Republic of Germany, Appendix 1 to §19a as amended and promulgated on August 28, 2013 (BGBl. I S. 3498) [1].

Konsens-Dokument der Bund-Länder-Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis ("Consensus Document of the National and Länder Working Party on Good Laboratory Practice") on the archiving and storage of records and materials, 5 May 1998 [2].

OECD Principles of Good Laboratory Practice as revised in 1997) and Safety Publications; Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring- Number 1. Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development Paris 1998 [3].

Este estudio se evaluó en cumplimiento con el plan de estudios y los procedimientos operativos estándares de BSL BIOSERVICE. El estudio o la facilidad de prueba es inspeccionada periódicamente por la unidad de aseguramiento de la calidad según los puntos correspondientes. Estas inspecciones y auditorías se llevan a cabo por la unidad de aseguramiento de la calidad, personal independiente de personal involucrado en el estudio. Una declaración de aseguramiento de la calidad firmada, un listado de todas las auditorías realizadas, está incluida en el informe.

5.2. Pautas

Este estudio ha sido realizado de acuerdo a los procedimientos indicados por BSL BIOSERVICE SOPs y se aceptaron las siguientes directrices y recomendaciones:

OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Section 4, No. 423, "Acute Oral Toxicity—Acute Toxic Class Method adopted 17 December 2001 [4]

Commission Regulation (EC) No. 440/2008, L 142, Annex Part B, Method B.1, tris 30 May 2008 [5]

EPA Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.1100 "Acute oral toxicity", EPA 712-C-02-190, December 2002 [6]

Los procedimientos y servicios cumplen con la directiva 2010/63/EU [7] y la legislación nacional definido en la ley de protección animal utilizados para los procedimientos científicos y experimentales. [8].

5.3. Sistema de archivo

Durante un periodo de 15 años (o inferior, si conforme con reglamentos GLP) BSL BIOSERVICE Scientific Laboratories GmbH almacenará los registros, materiales y muestras en sus sistemas de archivo científicos según los requisitos establecidos en GLP.

Los siguientes registros tienen que almacenarse conforme a las normas GLP:

Las versiones electrónicas originales del informe final, el plan de estudios y documentación de datos originales generadas durante la realización del estudio (documentación así como cualquier otra nota de datos originales, impresiones de instrumentos y equipos) y la correspondencia con el patrocinador del estudio. Con pocas excepciones, serán capturados datos usando el sistema informatizado departamental validado E-Workbook (ID Business Solutions Ltd.) y estos datos serán archivados electrónicamente. Para datos originales no electrónicos el archivo se realizará en forma de papel según SOPs apropiados. Sólo con el consentimiento previo del peticionario se descartará cualquier documento relacionado con el estudio.

Los siguientes materiales y muestras deben ser almacenadas según el período del tiempo especificado en las normas GLP: una muestra conservada del elemento de prueba se archivará según las normas GLP, si es posible y se descartarán sin el consentimiento previo del peticionario. Otros materiales y muestras deben ser almacenados según las normas GLP y desecharse después del período respectivo archivado con el consentimiento previo del patrocinador. Salvo acuerdo en contrario por escrito, el elemento de prueba restante se descartará tres meses después del lanzamiento del informe.

6. DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD

BSL BIOSERVICE

Studio No.: 146080

Muestra de ensayo: FIRE LIMIT FL-02

Título: Acute Eye Irritation/Corrosion in the Rabbit with
FIRE LIMIT FL-02

Director de estudio: Dr.Sandra Schmid

Este estudio has sido realizado de acuerdo a los procedimientos indicados por BSL BIOSERVICE SOPs y se aceptaron las siguientes directrices y recomendaciones:

Chemikaliengesetz("Chemicals Act")of the Federa lRepublic of Germany,Appendix1to§19aas amended and promulgated on August28,2013 (BGBl.IS.3498)[1].

Konsens-Dokument der Bund-Länder-Arbeits gruppeGuteLaborpraxis("Consensus Document of the National and Länder Working Party on Good Laboratory Practice")on the archiving and storage of records and materials,5 May1998 [2].

"OECD Principles ofGood Laboratory Practice (as revised in 1997)",Paris 1998 [3].

Sin ninguna circunstancia que pudiera afectar la calidad o la integridad del estudio.

Director de estudio:

.....

7. DECLARACIÓN DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

BSL BIOSERVICE

Studio No.: 146080

Muestra de ensayo: FIRE LIMIT FL-02

Título: AcuteEye Irritation/Corrosion in the Rabbit with
FIRE LIMIT FL-02

Director de estudio: Dr.SandraSchmid

Este informe y la realización de este estudio fueron inspeccionados por la unidad de aseguramiento de la calidad en las siguientes fechas:

Fase de inspección QAU	Fecha de la inspección QAU	Fecha de presentación de informes al Director de estudio y gestión
Plan de estudio Final de auditoría:	03 Febrero 2015	03 Febrero 2015
Fase experimental de auditoría:	04 Febrero 2015	04 Febrero 2015
Informe final de auditoría:	05 Marzo 2015	05 Marzo 2015

Este informe refleja los datos originales.

Member of the
Quality Assurance Unit:

.....

8. Resumen

8.1. Resumen de resultados

De acuerdo con los criterios de ensayo establecidos en el anexo VI de la comisión directiva 2001/59/EC[9]la sustancia se ha clasificado como sigue

R36 Irrita los ojos	—
R41Riesgo de lesiones oculares graves	
sin frase de riesgo	X

De acuerdo con los criterios de ensayo establecidos en el anexo I del Reglamento (EC)1272/2008[10],la sustancia se ha clasificado como sigue:

clasificado categoría 1	—
clasificado categoría 2	
No clasificado	X

De acuerdo con los criterios de ensayo establecidos en GHS(Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals)[11],la sustancia se ha clasificado como sigue:

clasificado categoria 1	<input type="checkbox"/>
clasificado categoria 2A	<input type="checkbox"/>
clasificado categoria 2B	<input type="checkbox"/>
No clasificado	<input checked="" type="checkbox"/>

Especies/raza:	New Zealand White Rabbits Crl:KBL (NZW)
Número de animales:	3
Cantidad de sustancia:	0.1 mLpor Ensayo
Primeros efectos:	no se observan
Últimos efectos:	no se observan
Efectos reversibles:	no se observan
Método:	OECD 405 [4] EC 440/2008,Método B.4[5] OPPTS 870.2400 [6]

Los resultados indicados en(Tabla1) no excedieron los valores límites establecidos en la directiva 2001/59/EC[9],Reglamento(EC)1272/2008[10]y GHS[11](para más detalles sobre la clasificación ver apartado16).

Table1: Media de resultados – (24, 48,72- lectura de datos)

Animales	Género	Enrojecimiento conjuntival	Quemosis conjuntival	Iris	Opacidad en córnea
Animal No.1	hembra	0.00	0.00	0.00	0.00
Animal No.2	hembra	0.00	0.00	0.00	0.00
Animal No.3	hembra	0.00	0.00	0.00	0.00

8.3. Conclusión

Las condiciones del presente estudio se basan en una sola aplicación de dosis de 0,1 mL de la solución en la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 en conejos sin observar ni producirse efectos irritantes.

No se observan signos de mortalidad ni signos clínicos significativos de toxicidad.

Conforme a los criterios de la CE para la clasificación y los requisitos de etiquetado para las sustancias peligrosas y mezclas según anexo VI de la Directiva 2001/59/CE Comisión [9], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de irritación ocular.

Según el anexo I del Reglamento (CE) 1272/2008 [10], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de irritación ocular.

Según GHS (Sistema Mundialmente Armonizado clasificación) [11] la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de irritación ocular.

Consulte el capítulo 16 para obtener información detallada de los criterios de clasificación

9. Introducción

9.1. Justificación de criterio seleccionado.

Se realiza la prueba de irritación ocular aguda/corrosiva en conejos.

En la evaluación de las características tóxicas de la muestra de ensayo, la determinación de los efectos irritantes o corrosivos en los ojos de los conejos es el paso inicial más importante.

No se probarán muestras de ensayo que cumplan cualquiera de los siguientes criterios:

- a) materiales que tienen potencial corrosivo predecible basado en relaciones estructura-actividad o propiedades fisicoquímicas como fuerte acidez o alcalinidad, por ejemplo, cuando la muestra a ensayar tiene un $\text{pH} \leq 2$ o $\geq 11,5$.
- b) materiales que han demostrado definitivamente ser corrosivos o una irritación severa en un estudio dérmico.
- c) prueba de materiales que han demostrado ser corrosivos por la corrosión de la piel mediante ensayos in vitro.

9.2. Justificación de método de ensayo seleccionado

Se realizó un estudio de opacidad córnea bovina y ensayo de permeabilidad (número 437 de OECD Guideline) en la muestra FIRE LIMIT FL-02 (BSL proyecto nº 146081).

Basándose en los resultados de estas pruebas es necesario realizar una prueba más in vivo para evaluar la irritación ocular aguda/corrosión.

10. MATERIALES Y METODOS

10.1. Características de la muestra de ensayo

La muestra de ensayo fue inspeccionada en la entrega en las instalaciones (por ejemplo nombre de elemento de prueba, lote no. y datos adicionales fueron comparados con la etiqueta) basado en las siguientes especificaciones proporcionadas por el cliente.

Nombre:	FIRE LIMIT FL-02
Num lote.:	20140916
Naturaleza de la muestra:	Industria Química
No CAS	57-13-6 (Urea) 7783-20-2 (sulfato amónico)
Estado físico en la recepción:	líquido
Color:	blanco
Densidad:	1.03 g/mL
pH en la recepción:	6.7
Condiciones almacenamiento:	temperatura ambiente, protegido de la luz
Fecha producción:	16 Septiembre 2014
Fecha caducidad:	16 Septiembre 2016

Precauciones de seguridad: Los procedimientos rutinarios de higiene fueron suficientes para asegurar la seguridad y la salud personal.

10.2. Preparación muestra de ensayo

Tal y como la muestra fue proporcionada por el peticionario.

10.3. Análisis del peso corporal

Para evitar el uso innecesario de animales y minimizar cualquier prueba que es susceptible de producir respuestas severas en los animales, se realizó un análisis del peso con los datos disponibles (datos de la hoja de datos de sustancia de prueba).

Estos datos fueron archivados en el archivo de proyecto. Además fue tomada en cuenta la confirmación por escrito que los estudios son necesarios para su presentación a las autoridades reguladoras o a cumplir obligaciones postuladas por ley .

10.4. Método de ensayo

Especie/Raza: Conejos blancos saludables New ZealandCrI: KBL (NZW)

Fuente: CharlesRiverDeutschland,97633 Sulzfeld,

Sexo: Hembra

Peso corporal en el inicio del estudio: 2Kg

Edad al inicio del estudio: 31/32 semanas

Número de animales: 3

Los animales se derivan de un sistema controlado de cría (SPF). Según el arti. 9.2, N° 7 de la ley alemana sobre el Bienestar Animal [9] los animales fueron criados para fines experimentales.

10.4.1. Condiciones de alimentación y vivienda

- Barrera completa en una habitación con aire acondicionado
- Temperatura: 18 ± 3 °C (recomendación TVT[12],GV-SOLAS[13])
- Humedad Relativa: 55 ± 10%
- Luz artificial, mediante secuencia 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad-
Cambio de aire al menos 10 x /hora
- Acceso libre a comida para conejos Altromin 2123 dieta para conejos (lot no.0923), rico en fibra.
- Acceso libre a agua (agua potable, control de residuos municipales, controles microbiológicos a intervalos regulares).
- Los certificados de alimentos, agua y ropa de cama se archivan en BSL BIOSERVICE.
- Ubicado en plástico ABS o Noryl jaulas del conejo, longitud 4200 cm².
- Período de aclimatación adecuada (mínimo 5 días) bajo condiciones de laboratorio.

10.5. Preparación de los animales

Aproximadamente 24 horas antes del examen e inmediatamente antes de la aplicación, fueron examinados ambos ojos de cada animal. Se realizó una inspección sanitaria para garantizar el buen estado de salud de los animales.

Aproximadamente de 20 a 23 horas antes de la aplicación, los ojos también fueron examinados con la ayuda de una solución de fluoresceína (Fluoreszein SE Thilo□, Alcon Pharma, Lote n° 401 H, fecha de vencimiento: 04/2016).

Los ojos fueron aclarados con solución salina fisiológica 0.9% NaCl (All Man Pharma, Lote n° 010914-2, fecha de vencimiento: 08/2017) después del examen.

Ninguno de los animales mostraron irritación en los ojos, defectos oculares o lesiones corneales preexistentes.

10.6. Test inicial (In Vivo Irritación ocular /Test corrosión en un solo animal)

El ensayo inicial in vivo, fue realizado inicialmente en un único animal.

10.7. Administración

Una hora antes de la aplicación de la prueba al artículo, 0.01 mg/kg de la buprenorfina (Reckitt Benckiser, Lote n° 5416, fecha de expiración: 09/2016) fue administrado por vía subcutánea con el fin de lograr un nivel terapéutico de analgesia sistémica. Aproximadamente 5 minutos antes de la aplicación de la prueba del artículo, 2-3 gotas de un anestésico ocular (proparacaína oftálmica 0.5% solución de clorhidrato, URSAPHARM Arzneimittel, Lote n° 282598, fecha de expiración: 04/2016) fueron administradas en los ojos de cada animal tras el control adecuado.

La solución se aplicó en una sola dosis en el saco conjuntival de un ojo de cada animal después de tirar de la tapa inferior del globo ocular.

Luego suavemente los párpados se mantuvieron juntos durante aproximadamente 1 segundo con el fin de evitar la pérdida del material

El ojo contralateral no tratado sirvió como control.

No fue aclarado el ojo tratado después de la aplicación.

10.8. Nivel de dosis

Una dosis de 0.1 mL se aplicó a la muestra de ensayo.

10.9. Confirmación de ensayo

Los resultados de la prueba inicial no indican signos de corrosión o irritación ocular utilizando el procedimiento descrito. Con el fin de confirmar la respuesta, dos animales adicionales fueron tratados de la misma manera.

10.10. Periodo de observación

Tras 72 horas de aplicación de la dosis, los animales fueron observados.

10.11. Observación clínica

Los ojos fueron examinados para detectar signos de irritación durante todo el período de observación.

Los resultados de la irritación ocular se anotaron según los grados indicados en la siguiente tabla.

El registro de datos se realizó a las 24, 48 y 72 horas tras la aplicación.

Al final del período de observación se examinaron los ojos tratados con la ayuda de una solución de fluoresceína (ver capítulo 10.5). Los ojos fueron aclarados con solución salina fisiológica 0.9% NaCl (ver capítulo 10.5) después del examen.

Tabla 2: Sistemas de grado de lesión ocular

Cornea: Grado de densidad (Opacidad, lectura del área más densa	puntuación
Sin opacidad ni úlceras	0
Áreas dispersas o difusas de opacidad (excepto leve brillo normal opaco), Detalles de iris visible	1
Zona translúcida fácilmente discernible, detalles de iris ligeramente oscurecido	2
Área nacarado, sin detalles de tamaño visible, iris de la pupila apenas perceptible	3
Córnea opaca, iris no perceptible a través de la opacidad	4

Iris	puntuación
Normal	0
Arruga notablemente profundizada, congestión, edema, hiperemia circumcorneal moderada o inyección; Iris reaccionan a la luz (una reacción lenta se considera ser un efecto)	1
Hemorragia, destrucción bruta o ninguna reacción a la luz	2

Conjuntiva:	puntuación
Enrojecimiento (se refiere a la conjuntiva palpebral y bulbar: excepto la córnea y el iris)	
Normal	0
Algunos vasos sanguíneos hiperémicos (inyectados)	1
Color carmesí difuso, no fácilmente discernible de otras individuales	2
Rojizo Difuso	3

Conjuntiva: Quemosis Hinchazón (se refiere a los párpados y / o membranas nictitantes)	puntuación
Normal	0
Algo de hinchazón superior a lo normal	1
Evidente hinchazón con la eversión parcial de párpados	2
Hinchazón en párpados ojo medio cerrado	3
Hinchazón de párpados más de medio ojo cerrado	4

10.12. Evaluación de resultados

Se registraron reacciones individuales para cada animal según el sistema de puntuación que se describe en la tabla 2 en cada momento de la observación.

Observación para los registros a las 24, 48 y 72 horas.

Se describieron la naturaleza, gravedad y duración de las observaciones clínicas.

Los cambios de peso se resumieron en una forma tabular.

Consulte el capítulo 16 para obtener información detallada de los criterios de clasificación.

Con pocas excepciones, fueron capturados los datos, usando el sistema computarizado departamental validado E-Workbook (versión 9.4.0, ID Business Solutions Ltd).

11. Desviaciones del plan de estudio

No se observó ninguna desviación.

12. Resultados

Después de la aplicación en los ojos en tres conejas NZB la muestra de ensayo no mostró signos de irritación ni corrosión ocular (véase tabla 3 - tabla 5).

No se observaron mortalidad ni signos clínicos significativos de toxicidad (véase tabla 6).

Con la ayuda de los exámenes de fluoresceína en el final del período de observación de 72 horas no se encontró en ningún animal lesiones corneales.

12.1. Registro

Se registraron los valores individuales para cada animal según el sistema de clasificación descrito en el capítulo 10.11 (verTabla2).

Para los datos individuales ver Tabla 3 -Tabla 5.

Tabla3: Registros irritación ocular-Animal No.1

Observación	Animal No.1 Registros irritación ocular tras la post aplicación								
	1 hora		24 horas		48 horas		72 horas		Puntuación promedio (24,48,72 horas)
	T	C	T	C	T	C	T	C	
Rojez	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Quemosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Iris	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Cornea	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00

T=muestra de ensayo; C =control

Tabla4: Registros irritación ocular-Animal No.2

Observación	Animal No. 2 -Registros irritación ocular tras la post aplicación								
	1 hora		24 horas		48 horas		72 horas		Puntuación promedio (24,48,72 horas)
	T	C	T	C	T	C	T	C	
Rojez	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Quemosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Iris	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Cornea	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00

T= muestra de ensayo; C =control

Tabla 5: Registros irritación ocular-Animal No.3

Observación	Animal No. 3 -Registros irritación ocular tras la pos aplicación								
	1 hora		24 horas		48 horas		72 horas		Puntuación promedio (24,48,72 horas)
	T	C	T	C	T	C	T	C	
Rojez	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Quemosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Iris	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
Cornea	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00

T= muestra de ensayo; C =control

12.2. Observación clínica

No se observe ningún cambio sistemático o en los efectos mostrados en tabla 3 – tabla 5. (Ver tabla 6).

Tabla 6: Datos clínicos– Animal No.1

Animal No.1			
Tiempo Post aplicación	Resultados locales		Resultados sistemáticos
	Muestra de ensayo	Control	
1 hora	nsf	nsf	nsf
24 horas	nsf	nsf	nsf
48 horas	nsf	nsf	nsf
72 horas	nsf	nsf	nsf

nsf=sin encuentros específicos

Tabla 7: Datos clínicos– Animal No.2

AnimalNo.2			
Tiempo Post aplicación	Resultados locales		Resultados sistemáticos
	Muestra de ensayo	Control	
1 hora	nsf	nsf	nsf
24 horas	nsf	nsf	nsf
48 horas	nsf	nsf	nsf
72 horas	nsf	nsf	nsf

nsf=sin encuentros específicos

Table 8: Datos clínicos– Animal No.3

AnimalNo.3			
Tiempo Post aplicación	Resultados locales		Resultados sistemáticos
	Muestra de ensayo	Control	
1 hora	nsf	nsf	nsf
24 horas	nsf	nsf	nsf
48 horas	nsf	nsf	nsf
72 horas	nsf	nsf	nsf

nsf=sin encuentros específicos

12.3. Desarrollo peso corporal

Se muestran los resultados del peso corporal de todos los animales. Todos los datos obtenidos se encuentran dentro del rango de peso esperado (seeTable 9).

Table9: Peso absoluto

Peso absoluto [kg]			
Número de animal	1	2	3
Inicio del estudio	3.9	4.3	4.5
Final del estudio	3.9	4.2	4.6

13. Conclusión

Las condiciones del presente estudio se basan en una sola aplicación de dosis de 0,1 mL de la solución en la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 en conejos sin observar ni producirse efectos irritantes.

No se observan signos de mortalidad ni signos clínicos significativos de toxicidad.

Conforme a los criterios de la CE para la clasificación y el etiquetado de los requisitos para las sustancias peligrosas y mezclas según anexo VI de la Directiva 2001/59/CE Comisión [9], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de irritación ocular.

Según el anexo I del Reglamento (CE) 1272/2008 [10], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de irritación ocular.

Según GHS (Sistema Mundialmente Armonizado clasificación) [11] la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de irritación ocular.

Consulte el capítulo 16 para obtener información detallada de los criterios de clasificación

14. DISTRIBUCIÓN DEL INFORME

1 original (electronico):	BSL BIOSERVICE
1 copia(electronico):	Para ser enviada al peticionario

15. Referencias

15.1. Bibliografía

- [1] Chemikaliengesetz ("Chemicals Act") of the Federal Republic of Germany, Appendix 1 to § 19a as amended and promulgated on August 28, 2013 (BGBl. IS. 3498)
- [2] Konsens-Dokument der Bund-Länder-Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis ("Consensus Document of the National and Länder Working Party on Good Laboratory Practice") on the archiving and storage of records and materials, 5 May 1998
- [3] OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997); OECD Environmental Health and Safety Publications; Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring - Number 1. Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris 1998
- [4] OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No. 405, "Acute Eye Irritation/Corrosion" (2012)
- [5] Commission Regulation (EC) No 440/2008, L 142, Annex Part B of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No. 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH)
- [6] EPA Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.2400 Acute Eye Irritation, EPA 712-C-98-195 (August 1998), United States Environmental Protection Agency, Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7101)
- [7] Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes
- [8] German Animal Welfare Act, Art. 9.2, No. 7 (Deutsches Tierschutzgesetz, 24. Juli 1972 (BGBl. IS. 1277), Inkrafttretender letzten Änderung: 13. Juli 2013, (Art. 2 ÄndG vom 04. Juli 2013)
- [9] EC, 2001: Commission Directive 2001/59/EC of 6th August 2001 adapting to technical progress for the 28th time Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the Classification, Packaging and Labeling of Dangerous Substances. Official Journal of the European Communities, L 225, 21 August 2001
- [10] Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. Official Journal of the European Communities, L 353, 31 December 2008
- [11] GHS-Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals. Fifth revised edition, United Nations. New York/Geneva, 2013
- [12] TVT Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz, Merkblatt 127 zur Tiergerechten Haltung von Versuchskaninchen, 2010
- [13] Planung, Struktur von Versuchstierbereich tierexperimenteller Institutionen; Veröffentlichung GV-SOLAS (Gesellschaft für Versuchstierkunde, Society for Laboratory Animal Science), Mai 1988

15.2. Literature

- [14] Draize, J.H.(1955),DermalToxicitypp. 46-59,Association ofFood and Drug Officials of the U.S.,Washington D.C.
- [15] Draize,J.H.(1965), Appraisal of the Safety of Chemicals,in:Foods,Drugs and Cosmetics-Dermal Toxicity pp. 49-52.,Assoc.of Food and Drug Officials of the United States,Topeka, Kansas
- [16] Weil,S.C.,Scala,R.A.,(1971),StudyofIntra-andInterlaboratoryVariabilityintheResultsofRabbitEyeand Skin IrritationTests.Toxicol.Appl.Pharmacol.12:276-360

15.3. Internal BSL BIOSERVICE SOPs

Standard Operating Procedures (SOPs) No.11-2-3

16. Apéndice: Criterio de clasificación

Sobre la base de los resultados de la prueba, la sustancia de ensayo puede clasificarse en una de las siguientes clases de conformidad con los criterios indicados en el anexo VI de la Directiva 2001/59/CE de la Comisión [9]:

□ R 36 Irrita los ojos

- Las sustancias y las mezclas las cuales, tras aplicación de la dosis en el animal causan lesiones oculares significantes dentro de las 72 horas tras la exposición y persiste por lo menos durante 24 horas.

Las lesiones oculares se consideran significantes si se muestran los signos en los ojos descritos de acuerdo a *Annex B.5 Commission Regulation (EC) No. 440/2008, L 142[5]* y presentan cualquiera de estos valores:

- opacidad de cornea ≥ 2 pero < 3 ,
- Lesión en el iris ≥ 1 pero ≤ 1.5 ,
- rojez conjuntiva ≥ 2.5 ,
- edema conjuntiva (quemosis) ≥ 2 ,

Es aplicable en los casos que tras las pruebas utilizando 3 animales las lesiones, en dos o más animales, son equivalentes a cualquiera de los valores anteriores, excepto que por lesión en el iris el valor debe ser igual o mayor que 1, pero inferior a 2 y para enrojecimiento de la conjuntiva, el valor debe ser igual o superior a 2.5.

En ambos casos deben utilizarse todas las puntuaciones para cada lectura estipulada (24, 48 y 72 horas) para un efecto en el cálculo de los siguientes valores:

- Sustancias o preparados que causan lesiones oculares importantes, basadas en la experiencia práctica en seres humanos.
- Peróxidos orgánicos excepto donde está disponible en sentido contrario.

R 41 Riesgo de lesiones oculares graves

- Las sustancias y las mezclas las cuales, tras aplicación de la dosis en el animal causan lesiones oculares graves dentro de las 72 horas tras la exposición y persiste por lo menos durante 24 horas.

Las lesiones oculares se consideran graves si se muestran los siguientes valores de acuerdo a *Annex B.5 Commission Regulation (EC) No. 440/2008, L 142[5]*

- Opacidad de córnea ≥ 3 ,
- Lesión iris > 1.5 .

Es aplicable en los casos que tras las pruebas utilizando 3 animales las lesiones, en dos o más animales, son equivalentes a cualquiera de los valores siguientes:

- Opacidad de córnea ≥ 3 ,
- Lesión iris = 2.

En ambos casos deben utilizarse todas las puntuaciones para cada lectura estipulada (24, 48 y 72 horas) para un efecto en el cálculo de los siguientes valores:

Las lesiones oculares también son graves cuando están todavía presentes al final del tiempo de observación.

Las lesiones oculares también se considerarán graves si la sustancia o preparado produce coloración irreversible de los ojos

- Sustancias o preparados que causan lesiones oculares importantes, basadas en la experiencia práctica en seres humanos.

Nota:

Cuando una sustancia o mezcla se clasifica como corrosiva y se le asigna R34 o R35, el riesgo daño severo en los ojos se considera implícito en R41 y no se incluye en la etiqueta.

Basándonos en los resultados de los ensayos, debe ser clasificado de acuerdo a las categorías y criterios establecidos en *Annex I of Regulation (EC)1272/2008*[10]:

Irritante ocular Categoría1:

Efectos irreversibles en los ojos / Daños severos en los ojos

Categoría	Criterio
Efectos irreversibles en los ojos (Categoría1)	<p>Si cuando se aplica en el ojo del animal la sustancia produce:</p> <ul style="list-style-type: none"> - al menos en una animal efectos en la cornea, iris o conjuntiva, que no van a desaparecer o que no han desaparecido completamente los efectos en los siguientes 21 días y/o - al menos 2 o 3 animales, una respuesta positiva a <ul style="list-style-type: none"> -opacidad en la cornea ≥ 3 y/o -iris >1.5 <p>Calculado a las siguientes 24,48 y 72horas tras la aplicación.</p>

Irritante ocular Categoría2:

Efectos irreversibles en los ojos / Irritante ocular

Categoría	Criterio
Irritante ocular (Categoría2)	<p>Si cuando se aplica en el ojo del animal la sustancia produce:</p> <ul style="list-style-type: none"> - al menos en 2 o 3 animales una respuesta positive a: <ul style="list-style-type: none"> -opacidad de cornea ≥ 1 y/o -iritis ≥ 1;y/o -enrojecimiento conjuntival ≥ 2 y/o -edema conjuntival (quemosis) ≥ 2 <p>Calculado a las siguientes 24,48 y 72horas tras la aplicación.</p>

De acuerdo a los resultados de los ensayos, la sustancia ensayada debe ser clasificada en la categoría de acuerdo a los criterios establecidos: *GHS- Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, fifth revised edition, 2013*[11]:

Daños severos en los ojos (Categoría1)/ Efectos irreversibles en los ojos

Categoría	Criterio
<p align="center">Categoría1: Daños severos en los ojos /Efectos irreversibles en los ojos</p>	<p>Si cuando se aplica en el ojo del animal la sustancia produce:</p> <ul style="list-style-type: none"> - al menos en una animal efectos en la cornea, iris o conjuntiva, que no van a desaparecer o que no han desaparecido completamente los efectos en los siguientes 21 días y/o - al menos 2 o 3 animales, una respuesta positiva a <ul style="list-style-type: none"> -opacidad en la cornea ≥ 3 y/o -iris > 1.5 <p>Calculado a las siguientes 24,48 y 72 horas tras la aplicación</p>

Irritante ocular (Categoría 2) / Efectos reversible en los ojos

Categoría	Criterio
	<p>Las sustancias que tienen el potencial de provocar irritación ocular reversible</p>
<p align="center">Categoría 2/2A</p>	<p>Si cuando se aplica en el ojo del animal la sustancia produce:</p> <ul style="list-style-type: none"> - al menos en 2 o 3 animales una respuesta positiva a: <ul style="list-style-type: none"> -opacidad de cornea ≥ 1 y/o -iritis ≥ 1; y/o -enrojecimiento conjuntival ≥ 2 y/o -edema conjuntival (quemosis) ≥ 2 <p>Calculado a las siguientes 24,48 y 72 horas tras la aplicación.</p>
<p align="center">Categoría 2B</p>	<p>Dentro de categoría 2A que un irritante ocular es considerado ligeramente irritante para los ojos (categoría 2B) cuando los efectos mencionados son completamente reversibles dentro de 7 días de observación.</p>

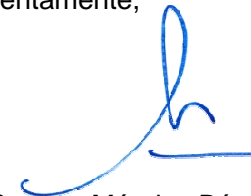
23/09/15

Estimado Mr. Habinoski:

Nos complace remitirles el informe del **303028M**, correspondiente a los análisis y ensayos realizados sobre la disolución denominada **FL-02**. Para cualquier aclaración que precisen no duden en ponerse en contacto con nosotros

Confianto que este documento sea de su satisfacción

Atentamente,



Susana Méndez Bóveda
Responsable Área de Corrosión y Protección

INFORME **303028M**

OBJETO El presente informe evalúa la capacidad de corrosión de una sustancia química (FL-02 solución) por medio de la disolución de cinco tipos diferentes de material (acero inoxidable, aluminio, cobre, hierro y latón) cuando se sumerge en esta sustancia

ÍNDICE

- | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| 1. ANTECEDENTES | 5. CONCLUSIONESS |
| 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL | 6. REGISTROS FOTOGRAFICOS |
| 3. CÁLCULOS | |
| 4. RESULTADOS | |

REPORT **303028M**

1. ANTECEDENTES

En la fecha 07/11/14 la compañía RIOSAGRADO entrega a AZTERLAN tres litros de la siguiente disolución:

- Material **Tres botellas cada una de un litro.**
- Referencia **FL-02**

Los análisis y pruebas necesarias deben llevarse a cabo con el fin de alcanzar los siguientes objetivos:

- Identificar el grado de corrosividad del fluido FL-02.

*Corrosividad se define como el proceso en el cual un sólido, específicamente un metal, está dañado y / o modificado por reacción electroquímica con otra sustancia.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Selección de muestras

Para abordar el ensayo se han seleccionado cinco tipos de materials; acero inoxidable, aluminio, cobre, hierro y latón.

La calidad de cada material (acorde con la composición química) se describe en la siguiente tabla:

Cobre	CuAl330
Latón	CuZn39Pb3
Acero inoxidable	AISI 316L
Aluminio	EN AC-ALSi7Mg0.6
Fundición	Fundición esferoidal ferrítica

Tabla 1. Calidad de los materials a ensayar

Se han mecanizado dos muestras iguales de cada calidad de material. La prueba se ha realizado en ambas muestras (ver figuras 1-5).

2.2. Preparación de las muestras metálicas

Antes de iniciar la prueba de corrosión, las muestras metálicas se han molido en grano 240 y en escabeche para eliminar la suciedad y la suciedad en la superficie y se limpian con agua y acetona y se seca. Todas las muestras se almacenaron en desecadores de las 24 horas antes de comenzar la prueba.

REPORT **303028M**

2.3. Procedimiento experimental

Todas las muestras a analizar se pesaron con 0,0001 g exactitud, y se miden (0,001 mm de precisión) con el fin de evaluar después de la prueba de la pérdida de masa de cada uno

Por otro lado, la disolución bajo estudio se ha transferido a 5 recipientes de vidrio con 500 ml cada una. En cada recipiente se han introducido dos muestras de la misma calidad.

Las condiciones de la prueba fueron temperatura ambiente (25 ± 1 °C) y la duración de la prueba se establece en 7 días.

Después de la prueba, todas las muestras se lavaron con agua, acetona y se secan. Entonces, ellos han pesado y se calcula la pérdida de masa. Todas las muestras se inspeccionaron (20x) para detectar la presencia de picaduras.

2.4. Observaciones

- El ensayo se ha llevado a cabo entre las fechas 11/11/14 y 18/11/14.

3. CÁLCULOS

La velocidad de corrosión se calcula y se expresa en mm / año utilizando la siguiente expresión

$$Velocidad\ de\ corrosión\ \left(\frac{mm}{año}\right) = \frac{8.76 \times 10^4 \times \Delta m}{S \times t \times \rho}$$

Donde:

- Δm (g) = Pérdida de masa de cada muestra metálico (promedio de dos muestras)
- S = Superficie expuesta (en cm^2)
- t = Tiempo expuesto (en horas)
- ρ = Masa específica medida (en g/cm^3)

REPORT **303028M**

4. RESULTADOS

El líquido a ensayar tenía una gran cantidad de sólidos en suspensión de modo que durante los sólidos tiempo de ejecución de prueba precipitados en el fondo del recipiente, incluso para cubrir alguna de las superficies de las muestras (fig. 6).

La tabla 2 muestra las medidas de las muestras metálicas probados

Muestras	Ancho (mm)		Longitud (mm)		Grosor (mm)		Area (cm ²)	
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2
Cobre	14.610	14.540	32.290	32.270	12.270	12.250	20.944	20.853
Latón	13.530	13.590	24.640	24.630	10.450	10.440	14.645	14.675
Acero inoxidable	20.880	20.940	20.050	20.000	11.290	11.480	17.615	17.776
Fundición	10.080	19.030	34.880	34.870	13.760	13.760	28.160	28.105
Aluminio	17.180	17.220	36.410	36.370	11.170	11.250	24.482	24.584

Tabla 2. Dimensiones de las muestras ensayadas

Y en el siguiente, se presenta la pérdida de masas.

Muestras	Masa inicial (g)		Masa final (g)		Δm (g)	
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2
Cobre	43,0334	42,9195	43,0326	42,9185	0,0008	0,0010
Latón	29,2232	29,3774	29,1962	29,3564	0,0270	0,0210
Acero inoxidable	37,7876	37,5692	37,7873	37,5686	0,0006	0,0003
Fundición	64,0797	64,1721	64,0474	64,1295	0,0323	0,0426
Aluminio	18,5256	18,6177	18,5245	18,6167	0,0011	0,0010

Tabla 3. Pérdida de masa de las muestras ensayadas.

REPORT **303028M**

Finalmente, la velocidad de corrosión para cada muestras es calculada de la siguiente manera;

Muestras	Tiempo (h)	Densidad (g/cm ³)	Velocidad de corrosión (mm/año)		
			Muestra 1	Muestra 2	Media
Cobre	168	7,14	0,003	0,004	0,004
Latón	168	8,47	0,100	0,088	0,09
Acero inoxidable	168	8,00	0,002	0,001	0,002
Fundición	168	7,36	0,081	0,107	0,09
Aluminio	168	2,67	0,009	0,008	0,009

Tabla 4. Velocidad de corrosión de los diferentes materiales sumergidos en FL-02.

5. CONCLUSIONES

Los análisis y pruebas realizadas en AZTERLAN permiten presentar las siguientes conclusiones

- ✓ **Las observaciones visuales han mostrado que la solución en la que el latón y el hierro se sumergieron muestra un cambio de color. No observada para los otros materiales.**
- ✓ **De acuerdo con la velocidad de corrosión calculada, el acero inoxidable, el cobre y el aluminio son los materiales menos afectados por el contacto con la solución de FL-02. En cambio, el latón y la fundición de hierro exhiben un comportamiento similar y más afectado que los precedentes**
- ✓ **No se observan picaduras en ningún tipo de material.**

6. REGISTROS FOTOGRAFICOS

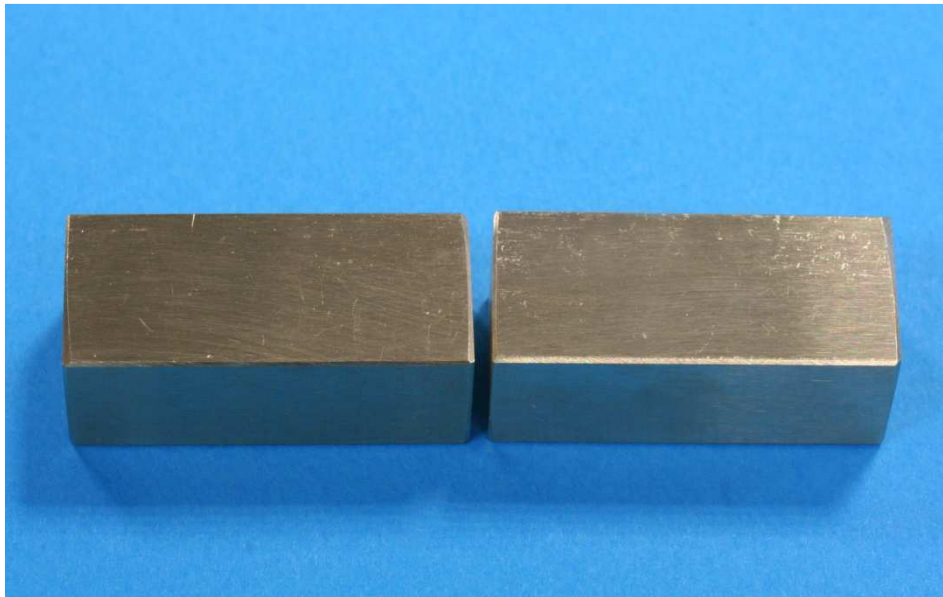


Figura 1. **Cobre**. Aspecto de las muestras antes del ensayo.



Figura 2. **Latón**. Aspecto de las muestras antes del ensayo.

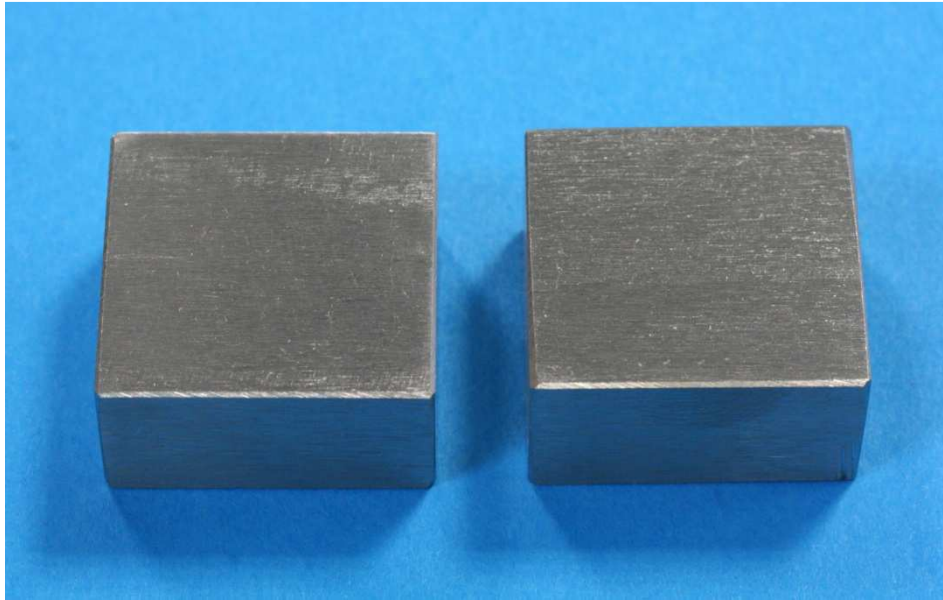


Figura 3. **Acero inoxidable.** Aspecto de las muestras antes del ensayo.

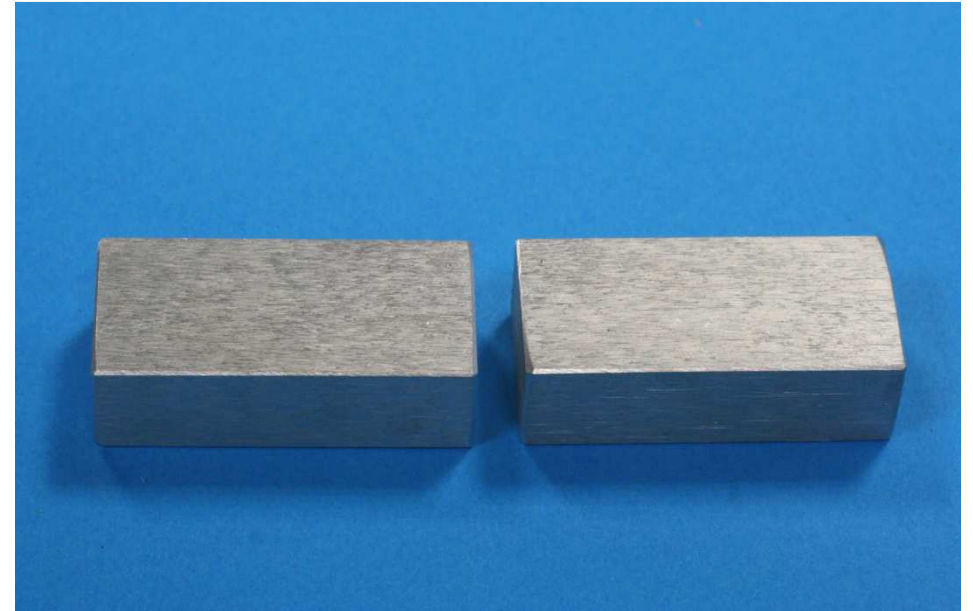


Figura 4. **Aluminio.** Aspectos de las muestras antes del ensayo..

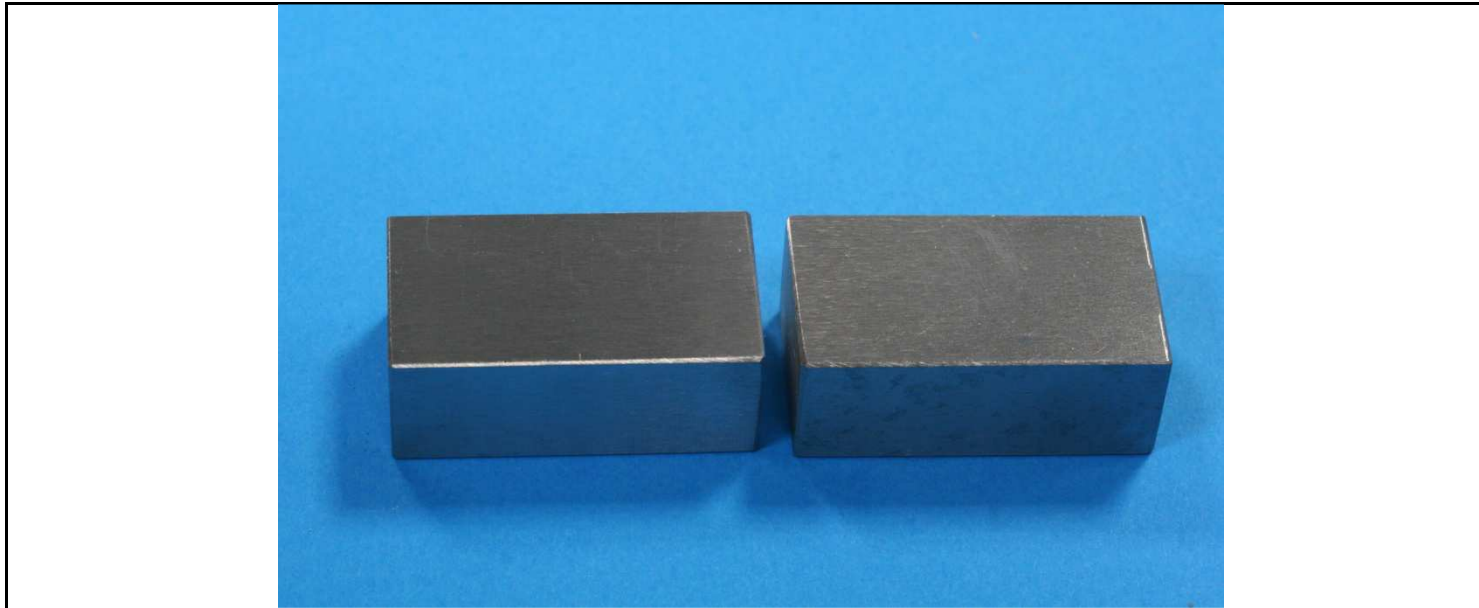


Figura 5. **Fundición.** Aspecto de las muestras antes del ensayo.



Figura 6. La precipitación de los sólidos durante el ensayo.



Figura 7. **Cobre**. Aspecto de las muestras después del ensayo.



Figura 8. **Latón**. Aspecto de las muestras después del ensayo.

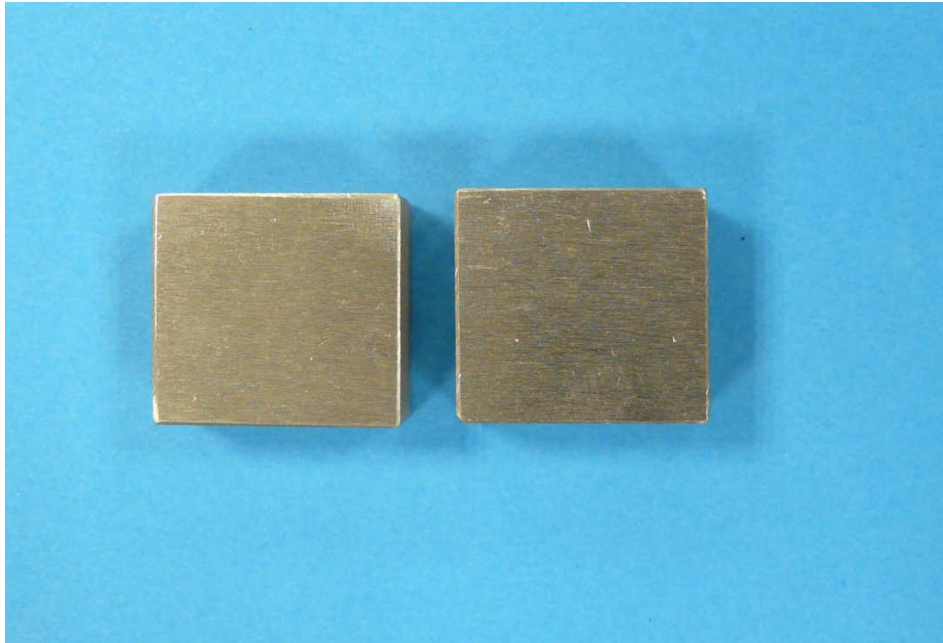


Figura 9. **Acero inoxidable.** Aspecto de las muestras después de ensayo.



Figura 10. **Fundición.** Aspecto de las muestras después de ensayo.

Este informe anula y sustituye al 303028.
Los resultados de este informe sólo afectan a las muestras sometidas a ensayo.
Está prohibida la reproducción parcial de este informe, salvo autorización por escrito de IK4 AZTERLAN.
El informe original se considera el que se envía y se archiva en IK4 AZTERLAN.



Figura 11. **Aluminio.** Aspecto de las muestras después de ensayo.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Susana Méndez', written over a horizontal line.

Susana Méndez
Responsable Área de Corrosión y Protección

Product Testing Spain BU

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN S.L.

C/ De la Font del Carme s/n

08193 Bellaterra (Barcelona)

Campus de la UAB

Tlf. 93 5202054 Fax: 93 567 20 01

Página 1 de 7

Nº INFORME: 11539/14/6996

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

DATOS IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE

NOMBRE: RIO SAGRADO S.L Att. Eduardo Rodrigues do Carmo

DIRECCIÓN: P.I As Gandaras Parcela 204

LOCALIDAD: 36400 Porriño (Pontevedra)

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

PRODUCTO: Determinación de la Ecotoxicidad en Daphnias según OCDE 202

S/REFERENCIA: 14006995

OBSERVACIONES:

F. RECEPCIÓN: 20/10/14

LAB ENSAYOS FÍSICOS Y QUÍMICOS

Inicio: 20/10/14

Final: 23/12/14

ASUNTO SOLICITADO

Determinación de la Toxicidad en Daphnias según la norma **OCDE 202** de una muestra líquida remitida por el peticionario.

La muestra está referenciada como **MUESTRA FL-02**. La empresa Eurofins ha referenciado esta muestra como 14006996.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Resumen

Se ha realizado el Estudio de la toxicidad aguda en dafnias de la muestra referenciada con nº14006996.

Para la determinación de la inhibición de la movilidad se ha usado la especie de crustáceos *Daphnia magna* y se ha seguido el método operativo MO 03 basado en el método OCDE 202.

El crustáceo de agua dulce *Daphnia magna* ha sido sometido a la muestra nº 14006996 a las concentraciones de ensayo: 100, 220, 480, 1000, 2200, 4800 y 1000mg/L de dicha muestra. La duración total del ensayo ha sido 48 horas.

El resultado obtenido en este ensayo nos indica que la muestra nº 14006996 no es tóxica para *Daphnia magna* a la concentración de 1000mg/L a las 48 horas de ensayo.

Objetivo del estudio

El objetivo del estudio es investigar los efectos de la sustancia o producto ensayado en el crustáceo de agua dulce *Daphnia magna* durante 48 horas de exposición

Organismo de ensayo

- Cepa: *Daphnia magna*
- Edad: ≤24 horas de vida y en buenas condiciones fisiológicas.
- Procedencia: Universidad de Stirling de Reino Unido
- Condiciones de cultivo. El cultivo de dafnias a partir del cual se han obtenido los individuos para llevar a acabo el ensayo presenta las siguientes condiciones:
 - Temperatura: entre 18 y 22°C
 - Fotoperiodo de 16 horas de luz/8 horas de oscuridad
 - Sin aireación
 - Alimentación:
 - Tipo de alimento: *Chlorella* (microalga de agua dulce) y extracto de algas marinas
 - Frecuencia de administración de alimento: 3veces/semana.
 - La sustancia de referencia utilizada para verificar la respuesta de los organismos de ensayo en es dicromato potásico (K₂Cr₂O₇). El resultado de la verificación periódica de la respuesta de los organismos de ensayo es CE₅₀ 24h=1,2mg/L.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Condiciones de ensayo

- Duración del ensayo: 48 horas.
- Temperatura: 20°C±2
- Fotoperiodo: Oscuridad
- Descripción del diseño de ensayo.
 - Recipientes de ensayo: Tubos de ensayo (40mL) tapados con parafilm
 - Volumen de ensayo utilizado: 10mL
- Nº de recipientes de ensayo por concentración: 4
- Nº de individuos por concentración: 20, repartidos en 5 individuos por recipiente de ensayo
- Edad de los individuos: menos de 24 horas de vida.
- Composición del medio de cultivo (agua de dilución):

Composición del medio de cultivo ASTM E 729-96:

- Solución 1: CaCl ₂ 2H ₂ O	2,4 g/L H ₂ O
- Solución 2: MgSO ₄ 7H ₂ O	49,1 g/L H ₂ O
- Solución 3: NaHCO ₃	38,4 g/L H ₂ O
- Solución 4: KCl	1,6 g/L H ₂ O

Añadir a 1000ml de agua desionizada:

Solución 1	50ml
Solución 2	5ml
Solución 3	5ml
Solución 4	5ml

Desarrollo de ensayo

- Concentraciones de ensayo: 100, 220, 480, 1000, 2200, 4800, 10000 mg/L más un control (únicamente medio de cultivo)
- Número de concentraciones de ensayo: 7+control
- Factor de progresión geométrica utilizado: 2,2

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

- Preparación de las soluciones de ensayo: Se ha preparado una solución madre con una concentración de 10g/L del material presentado (ref. 14006996). Por lo tanto, 1g del material presentado se ha disuelto en 100mL de medio de cultivo en un frasco volumétrico, Clase A de 100mL mediante agitación, por lo que tenemos una solución madre de 10.000mg/L. Las diferentes soluciones utilizadas han sido preparadas a partir de esta solución madre.
- Condiciones de ensayo: Los recipientes de ensayo se colocan en un armario incubador isotérmico a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad durante un periodo de exposición de 48h.

Resultados

El ensayo se lleva a cabo durante los días 28 de Octubre y 30 de Octubre de 2014. Los ensayos que se adjuntan en este informe han sido realizados por nuestro laboratorio colaborador "Centre de Recerca i Innovació en Toxicologia de la UPC" con número de informe 7527/197.14 laboratorio acreditado por el CIDEM de la Generalitat de Catalunya. Inscrito en el registro de laboratorios Agroalimentarios y reconocido por el departamento de Agricultura, Ganadería y Pesca; e inscrito en el registro de laboratorios de Salud Pública Ambiental y Alimentaria de la Generalitat de Catalunya y certificado según UNE-EN-ISO 9001:2001.

Se han obtenido los siguientes resultados:

Valores de pH durante el ensayo:

- Valor de pH medio de cultivo al inicio del ensayo: 7,98
- Valor de pH medio de cultivo al final del ensayo: 7,47
- Valor de pH concentración mínima al inicio del ensayo: 7,88
- Valor de pH concentración mínima al final del ensayo: 7,75
- Valor de pH concentración máxima al inicio del ensayo: 7,26
- Valor de pH concentración máxima al final del ensayo: 7,19

Valores de O₂ disuelto (mg/L) durante el ensayo:

- Valor de O₂ disuelto medio de cultivo al inicio del ensayo: 8,56
- Valor de O₂ disuelto medio de cultivo al final del ensayo: 8,32
- Valor de O₂ disuelto concentración mínima al inicio del ensayo: 8,48

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

- Valor de O₂ disuelto concentración mínima al final del ensayo: 8,12
- Valor de O₂ disuelto concentración máxima al inicio del ensayo: 8,23
- Valor de O₂ disuelto concentración máxima al final del ensayo: 8,18

Los resultados de número de individuos móviles a las 24 y 48 horas están representados en las siguientes tablas:

Concentración (mg/L)	Nº individuos móviles 24 horas					Total
	Réplicas					
	1	2	3	4		
Control	5	5	5	5	20	
100	5	5	5	5	20	
220	5	5	5	5	20	
480	5	5	5	5	20	
1000	5	5	5	5	20	
2200	5	5	5	5	20	
4800	5	5	5	5	20	
10000	5	5	5	5	20	

Concentración (mg/L)	Nº individuos móviles 48 horas					Total
	Réplicas					
	1	2	3	4		
Control	5	5	5	5	20	
100	5	5	5	5	20	
220	5	5	5	5	20	
480	5	5	5	5	20	
1000	5	5	5	5	20	
2200	5	5	5	5	20	
4800	5	5	5	5	20	
10000	5	5	5	5	20	

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

En la siguiente tabla, se representa el porcentaje de inhibición de la movilidad de las dafnias a las 24 y 48 horas de ensayo:

Concentración (mg/L)	% inhibición movilidad (24h)	% inhibición movilidad (48h)
Control	0	0
100	0	0
220	0	0
480	0	0
1000	0	0
2200	0	0
4800	0	0
10000	0	0

A la concentración máxima ensayada del material ref. 14006996 no produce inhibición de la movilidad de la especie *Daphnia magna*.

CE₅₀ (24h) > 10000 mg/L

CE₅₀ (48h) > 10000 mg/L

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

Product Testing Spain BU
EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN S.L.
C/ De la Font del Carme s/n
08193 Bellaterra (Barcelona)
Campus de la UAB
Tlf. 93 5202054 Fax: 93 567 20 01

Página 7 de 7

Nº INFORME: 11539/14/6996

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

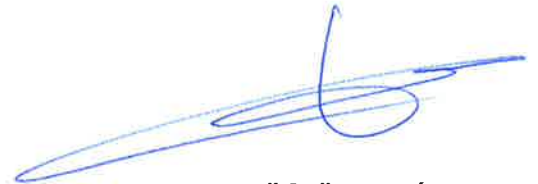
Validación del ensayo

El criterio de validación para este ensayo es:

- El porcentaje de inmovilización observado en los recipientes control es inferior o igual al 10%
- La CE_{50} del dicromato de potasio está comprendida entre 0,6 mg/L y 1,7 mg/L.

CONCLUSIONES

El compuesto ensayado con referencia nº14006996 no es tóxico para *Daphnia magna* (CE_{50} (48h) > 10000 mg/L)



Jordi Codina Prunés

**Responsable Unidad Confort Ambiental
Bellaterra, 23 de Diciembre de 2014**

Garantía de Calidad de Servicio

EUROFINS, garantiza que este trabajo se ha realizado dentro de lo exigido por nuestro Sistema de Calidad y Sostenibilidad, habiéndose cumplido las condiciones contractuales y la normativa legal.

En el marco de nuestro programa de mejora les agradecemos nos transmitan cualquier comentario que consideren oportuno, dirigiéndose al responsable que firma este escrito, o bien, al Director de Calidad de EUROFINS.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

Product Testing Spain BU**EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN S.L.**

C/ De la Font del Carme s/n

08193 Bellaterra (Barcelona)

Campus de la UAB

Tlf. 93 5202054 Fax: 93 567 20 01

Página 1 de 7

Nº INFORME: 11539/14/6995

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL**DATOS IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE****NOMBRE: RIO SAGRADO S.L Att. Eduardo Rodrigues do Carmo****DIRECCIÓN: P.I As Gandaras Parcela 204****LOCALIDAD: 36400 Porriño (Pontevedra)****DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA****PRODUCTO: Determinación de la Ecotoxicidad en Peces según OCDE 203****S/REFERENCIA: 14006995****OBSERVACIONES:****F. RECEPCIÓN: 20/10/14****LAB ENSAYOS FÍSICOS Y QUÍMICOS****Inicio: 20/10/14****Final: 23/12/14****ASUNTO SOLICITADO**

Determinación de la Toxicidad en Peces según la norma **OCDE 203** de una muestra líquida remitida por el peticionario.

La muestra está referenciada como **MUESTRA FL-02**. La empresa Eurofins ha referenciado esta muestra como 14006995.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Resumen

Se ha realizado el Estudio de la toxicidad aguda en peces de la muestra referenciada con nº14006995. Para la determinación de la mortalidad se ha usado la especie de teleósteos de agua dulce *Brachydanio rerio* y se ha seguido el método operativo MO 05 basado en el método OCDE 203.

El pez de agua dulce *Brachydanio rerio* ha sido sometido a la muestra Nº 14006995 a las concentraciones de ensayo: 10, 22, 48, 100, 220, 480, 1000, 2200, 4800 y 1000 mg/L de dicha muestra. La duración total del ensayo ha sido 96 horas.

El resultado obtenido en este ensayo nos indica que la muestra Nº 14006995 presenta una CL₅₀ 96h para *Brachydanio rerio* de 6930mg/L.

Objetivo del estudio

El objetivo del estudio es investigar los efectos de la sustancia o producto ensayado en el teleósteo de agua dulce *Brachydanio rerio* durante 96 horas de exposición

Organismo de ensayo

- Cepa: *Brachydanio rerio*
- Procedencia: P&S, S.L
- Peso (g): 0,27±0,12
- Condiciones de mantenimiento:
 - Temperatura: 22°C±2
 - Fotoperiodo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad
 - Concentración de Oxígeno disuelto: >60%
 - Alimentación:
 - Tipo de alimento: Escamas comerciales destinadas a la alimentación de peces
 - Frecuencia de administración de alimento: 3 veces/semana, hasta 24 horas antes del inicio de ensayo
 - Aclimatación: mínimo 12 días
 - Mortalidad: 0%

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Condiciones de ensayo

- Tipo de ensayo: Semi estático. Se realiza un cambio de agua a las 48 horas de ensayo.
- Duración del ensayo: 96 horas.
- Temperatura: 22°C±2
- Fotoperiodo: 12 horas de luz/12 horas de oscuridad
- Descripción del diseño de ensayo.
 - Recipientes de ensayo: Acuarios para peces
 - Volumen de ensayo utilizado: 3L
- Nº de recipientes de ensayo por concentración: 1
- Nº de individuos por concentración: 7
- Aireación continua durante el ensayo
- Alimentación: Ninguna durante el ensayo.
- Características de la calidad del agua:
 - Dureza: 152mg CaCO₃/L
 - pH: 8,29
 - Temperatura: 22°C±2
 - Concentración de O₂ disuelto: >70%

Desarrollo de ensayo

- Concentraciones de ensayo: 10, 22, 48, 100, 220, 480, 1000, 2200, 4800 y 10000 mg/L más un control (únicamente agua declorada)
- Número de concentraciones de ensayo: 10+control
- Factor de progresión geométrica utilizado: 2,2
- Preparación de las soluciones de ensayo: se han realizado las diluciones para cada una de las concentraciones de ensayo añadiendo la cantidad de muestra necesaria y llevando a volumen de 3 litros.
- A las 48 horas del ensayo se renueva el agua declorada de todos los acuarios de ensayo.
- Temperatura de ensayo: 22°C±2

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Resultados

El ensayo se lleva a cabo durante los días 27 de Octubre y 31 de Octubre de 2014. Los ensayos que se adjuntan en este informe han sido realizados por nuestro laboratorio colaborador "Centre de Recerca i Innovació en Toxicologia de la UPC" con número de informe 7527/196.14 laboratorio acreditado por el CIDEM de la Generalitat de Catalunya. Inscrito en el registro de laboratorios Agroalimentarios y reconocido por el departamento de Agricultura, Ganadería y Pesca; e inscrito en el registro de laboratorios de Salud Pública Ambiental y Alimentaria de la Generalitat de Catalunya y certificado según UNE-EN-ISO 9001:2001.

Se han obtenido los siguientes resultados:

Valores de pH durante el ensayo:

Concentración (mg/L)	0h	48h*	48h**	96h
Control	8,29	8,30	8,32	8,24
10	8,26	8,25	8,23	8,25
22	8,27	8,24	8,24	8,25
48	8,24	8,23	8,25	8,26
100	8,26	8,24	8,26	8,24
220	8,27	8,25	8,26	8,24
480	8,26	8,25	8,25	8,25
1000	8,25	8,26	8,27	8,24
2200	8,19	8,24	8,21	8,23
4800	8,07	8,22	8,09	8,22
10000	7,99	8,18	8,00	8,19

(*): Antes de la renovación

(**): Después de la renovación

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Valores de O₂ disuelto (%) durante el ensayo:

Concentración (mg/L)	0h	48h*	48h**	96h
Control	94,3	95,4	95,6	95,8
10	94,6	95,4	95,7	95,9
22	94,7	95,6	95,4	96,0
48	94,5	95,5	95,7	96,0
100	94,5	95,5	95,6	95,8
220	94,7	95,4	95,6	96,1
480	94,6	95,6	95,5	95,9
1000	94,8	95,3	95,4	95,9
2200	94,6	95,3	95,4	95,8
4800	94,6	95,4	95,6	96,0
10000	94,7	95,4	95,5	96,0

(*): Antes de la renovación

(**): Después de la renovación

Valores de Temperatura (°C) durante el ensayo:

Concentración (mg/L)	0h	48h*	48h**	96h
Control	21	21	21	21
10	21	21	21	21
22	21	21	21	21
48	21	21	21	21
100	21	21	21	21
220	21	21	21	21
480	21	21	21	21
1000	21	21	21	21
2200	21	21	21	21
4800	21	21	21	21
10000	21	21	21	21

(*): Antes de la renovación

(**): Después de la renovación

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Los resultados de los peces muertos a las 24h, 48h, 72h y 96h están representados en la siguiente tabla:

Concentración (mg/L)	0h	24h	48h	72h	96h
Control	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0
220	0	0	0	0	0
480	0	0	0	0	0
1000	0	0	0	0	0
2200	0	0	0	0	0
4800	0	0	0	0	0
10000	0	4	5	7	7

En la siguiente tabla, se representa el porcentaje de mortalidad de los peces a las 24, 48, 72 y 96 horas de ensayo:

Concentración (mg/L)	24h	48h	72h	96h
Control	0%	0%	0%	0%
10	0%	0%	0%	0%
22	0%	0%	0%	0%
48	0%	0%	0%	0%
100	0%	0%	0%	0%
220	0%	0%	0%	0%
480	0%	0%	0%	0%
1000	0%	0%	0%	0%
2200	0%	0%	0%	0%
4800	0%	0%	0%	0%
10000	57%	71%	100%	100%

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada

EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN, S.L. Inscrita en el Registro Mercantil de Barcelona, Volumen 43988, Folio 92, Hoja nº -B 443750, Inscripción 1ª, NIF B-66137175.

INFORME DE ENSAYO EMITIDO POR EUROFINS PRODUCT TESTING SPAIN SL

Debido a que los datos obtenidos son inadecuados para el cálculo de la CL₅₀ empleando métodos estandarizados, se utiliza como una aproximación de la CL₅₀ la media geométrica de la concentración más alta que no causa ninguna mortalidad y la concentración más baja que produce 100% de mortalidad del producto ensayado con referencia 14006995:

$$CL_{50} (96h) = 6930mg/L$$

El producto de ensayo nº 14006995 presenta una CL₅₀ 96h para *Brachydario rerio* de 6930mg/l.

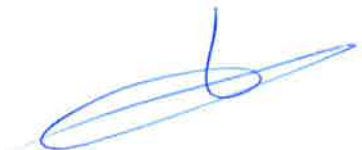
Validación del ensayo

El criterio de validación para este ensayo es:

- Deben mantenerse las condiciones constantes a ser posible durante todo el ensayo
- La mortalidad en los controles no debe ser superior al 10% al final del ensayo
- La concentración de oxígeno disuelto debe ser por lo menos del 60% del valor de saturación del aire.

CONCLUSIONES

El producto de ensayo nº 14006995 presenta una CL₅₀ 96h para *Brachydario rerio* de 6930mg/l.



Jordi Codina Prunés

**Responsable Unidad Confort Ambiental
Bellaterra, 23 de Diciembre de 2014**

Garantía de Calidad de Servicio

EUROFINS, garantiza que este trabajo se ha realizado dentro de lo exigido por nuestro Sistema de Calidad y Sostenibilidad, habiéndose cumplido las condiciones contractuales y la normativa legal.
En el marco de nuestro programa de mejora les agradecemos nos transmitan cualquier comentario que consideren oportuno, dirigiéndose al responsable que firma este escrito, o bien, al Director de Calidad de EUROFINS.

La reproducibilidad del presente documento está sólo autorizada si se realiza en su totalidad.

Los resultados obtenidos sólo dan fe de la muestra analizada



**Toxicidad Cutánea Aguda
(Ensayo límite) en ratas
para
FIRELIMIT FL-02**

Report

Version:Final

Fecha finalización

estudio:29January2015BSL BIOSERVICE

StudyNo.:146079

Cliente:

RIO SAGRADO,
S.L.POL.IND.AS
GANDARASPARCELA
204
36400
PORRIÑOSPAIN

TRADUCIDO POR EUROFINs

1. Copia de Certificado GLP

Bayerisches Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit



GLP-Bescheinigung/Statement of GLP Compliance (gemäß/according to § 19b Abs. 1 Chemikaliengesetz)

Eine GLP-Inspektion zur Überwachung
der Einhaltung der GLP-Grundsätze
gemäß Chemikaliengesetz bzw. Richt-
linie 2004/9/EG wurde durchgeführt in:

Assessment of conformity with GLP
according to Chemikaliengesetz and
Directive 2004/9/EC at:

Prüfeinrichtung/Test facility

Prüfstandort/Test site

BSL BIOSERVICE
SCIENTIFIC LABORATORIES GMBH
BEHRINGSTRASSE 6-8
82152 PLANEGG

(Unverwechselbare Bezeichnung und Adresse/Unequivocal name and address)

Prüfungen nach Kategorien/Areas of Expertise
(gemäß/according ChemVwV-GLP Nr. 5.3/OECD guidance)

Kategorie 2

Kategorie 3

Kategorie 9*

**Mikrobiologische Sicherheitsprüfungen; Wirksamkeitsprüfungen an Zellkulturen*

Datum der Inspektion/Date of Inspection

(Tag.Monat.Jahr/day.month.year)

03.- 04.07.2012

Die/Der genannte Prüfeinrichtung/Prüfstandort
befindet sich im nationalen GLP-Überwachungs-
verfahren und wird regelmäßig auf Einhaltung der
GLP-Grundsätze überwacht.

The above mentioned test facility/test site is
included in the national GLP Compliance
Programme and is inspected on a regular basis.

Auf der Grundlage des Inspektionsberichtes wird
hiermit bestätigt, dass in dieser Prüfeinrichtung/
diesem Prüfstandort die oben genannten Prüf-
ungen unter Einhaltung der GLP-Grundsätze
durchgeführt werden können.

Based on the inspection report it can be confirmed,
that this test facility/test site is able to conduct the
aforementioned studies in compliance with the
Principles of GLP.

Erlangen, 22.01.2013



Dr. Peter Franke
Leitender Regierungsdirektor

2. Contenidos

	pag
1. Copia certificado GLP	2
2. Contenidos	3
3. Listado de tablas	4
4. Prefacio	5
4.1. Abreviaturas	5
4.2. General	6
4.3. Personal proyecto	6
4.4. Cronograma	6
5. Garantía de calidad	7
5.1. GLP Cumplimiento	7
5.2. Pautas	7
5.3. Sistema de archivo	7
6. Declaración de conformidad	9
7. Declaración de aseguramiento de calidad	10
8. Resumen	11
8.1. Resumen de resultados	11
8.2. Conclusión	12
9. Introducción	13
9.1. Justificación selección sistema de ensayo	13
9.2. Justificación selección método de ensayo	13
10. Materiales y métodos	14
10.1. Caracterización del elemento de prueba	14
10.2. Preparación muestra de ensayo	14
10.3. Sistema de ensayo	14
10.3.1. Vivienda y condiciones de ensayo	15
10.4. Preparación de los animales	15
10.5. Aplicación	15
10.6. Nivel de dosis	15
10.7. Periodo de exposición	15
10.8. Período de observación	15
10.9. Irritación de piel primaria	16
10.10. Control de peso	16
10.11. Examen clínico	16
10.12. Patología	16
10.13. Evaluación de resultados	17
11. Desviaciones del plan de estudio	18
12. Resultados	19
12.1. Signos clínicos de toxicidad	19
12.2. Irritación dermal en aplicación	19
12.3. Desarrollo del peso corporal	20
12.4. Patología	21
12.5. LD 50Corte	21
13. Conclusión	22
14. Distribución del informe	23
15. Referencias	24
15.1. Guía	24
15.2. BSLBIOSERVICE SOPs interno	24
16. Apéndice: Criterio de clasificación	25

3. Listado de tablas

	pag
Tabla1: Resultados	11
Tabla2: Sistema de puntuación.....	16
Tabla3: Signos clínicos toxicidad–Registro individual –Machos	19
Tabla 4: Signos clínicos toxicidad – Registro individual – Hembras.....	19
Tabla5: Irritación dermal en el momento de la aplicación–Registro individual–Machos	19
Tabla6: Irritación dermal en el momento de la aplicación – Registro individual - Hembras	20
Tabla7: Peso corporal absoluto en gr. y ganancia de peso en %	20
Tabla8: Resultados macroscópicos–Registro individual–Machos y hembras	21
Tabla9: DL50	21

4. Prefacio

4.1. Abreviaturas

Art.	Artikel(<i>article</i>)
BGBI.	Bundesgesetzblatt(<i>FederalLawGazette</i>)
bw	bodyweight
Dipl.-Biol.	DiplomBiologe(<i>BiologyDiploma</i>)
EC	EuropeanCommission
EEC	EuropeanEconomic Community
e.g.	exempligratia (<i>forexample</i>)
EPA	Environmental Protection Agency
GHS	Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals
GLP	Good Laboratory Practice
GmbH	Gesellschaftmitbeschränkter Haftung(<i>company with limited liability</i>)
IVC	individually ventilated cage(s)
DL ₅₀	Dosis Letal Media
No.	number
OECD	Organization for Economic Cooperation and development
OPPTS	Office of Prevention, Pesticides and Toxic substances
QAU	Quality Assurance Unit
SOPs	Standard Operating Procedures
SPF	specific-pathogen free

4.2. General

Cliente: RIO SAGRADO, S.L.
POL.IND.AS GANDARASPARCELA
204
36400
PORRIÑOSPAIN

Monitor estudio: Ms YesikaTrujillo
MuñozEurofins
ProductTestingSpainCampusU
AB
C/FontdeCarme,s/n08
193 BellaterraSPAIN

Centro de ensayo: BSL BIOSERVICE
Scientific Laboratories
GmbHBehringstraße 6/8
82152
PlaneggGermany

BSL BIOSERVICESTudyNo.: 146079

Muestra de ensayo: FIRE LIMIT FL-02

Título: AcuteDermalToxicity(LimitTest)in theRatwith
FIRE LIMIT FL-02

4.3. Personal de proyecto

Director de estudio: Dr.PradeepTakawale

Responsables: Dr.Angela
LutterbachDr.KatrinWi
tschital

Head ofGLP
Quality Assurance Unit: Dipl.-Biol.UweHamann

4.4. Cronograma

Recepción muestra de ensayo: 31October2014

Fecha inicio ensayos: 03December2014

Periodo de aclimatización: Maleanimals: 11October2014–16December2014
Female animals:08 January2015–12 January2015

Fecha inicio experimento: 17December2014

Fecha aplicación de dosis: Maleanimals: 17December2014
Female animals:13 January2015

Fecha final experimento: 27 January2015

5. Garantía de calidad

5.1. GLP Cumplimiento

Este estudio se realiza de modo para cumplir con los siguientes requisitos:

Chemikaliengesetz("ChemicalsAct") of the Federal Republic of Germany, Appendix 1 to § 19 as amended and promulgated on August 28, 2013 (BGBl. IS. 3498) [1].

Konsens-Dokument der Bund-Länder-Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis("Consensus Document of the National and Länder Working Party on Good Laboratory Practice") on the archiving and storage of records and materials, 5 May 1998 [2].

OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997); OECD Environmental Health and Safety Publications; Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring- Number 1. Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris 1998 [3].

The OECD Principles of Good Laboratory Practice are accepted by regulatory authorities throughout the European Community, USA and Japan.

Este estudio se evaluó en cumplimiento con el plan de estudios y los procedimientos operativos estándares de BSL BIOSERVICE. El estudio o la facilidad de prueba es inspeccionada periódicamente por la unidad de aseguramiento de la calidad según los puntos correspondientes. Estas inspecciones y auditorías se llevan a cabo por la unidad de aseguramiento de la calidad, personal independiente de personal involucrado en el estudio. Una declaración de aseguramiento de la calidad firmada, un listado de todas las auditorías realizadas, están incluidas en el informe.

5.2 Pautas

Este estudio ha sido realizado de acuerdo a los procedimientos indicados por BSL BIOSERVICE SOPs y se aceptaron las siguientes directrices y recomendaciones:

OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Section 4, No. 423, "Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method" adopted 17 December 2001 [4]

Commission Regulation (EC) No. 440/2008, L 142, Annex Part B, Method B.1, tris 30 May 2008 [5] EPA Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.1100 "Acute oral toxicity", EPA 712-C-02-190, December 2002 [6]

Los procedimientos y servicios cumplen con la directiva 2010/63/EU [7] y la legislación nacional definido en la ley de protección animal utilizados para los procedimientos científicos y experimentales. [8].

5.3. Sistema de archivo

Durante un periodo de 15 años (o inferior, si conforme con reglamentos GLP) BSL BIOSERVICE Scientific Laboratories GmbH almacenará los registros, materiales y muestras en sus sistemas de archivo científicos según los requisitos establecidos en GLP.

Los siguientes registros tienen que almacenarse conforme a las normas GLP:

Las versiones electrónicas originales del informe final, el plan de estudios y documentación de datos originales generadas durante la realización del estudio (documentación así como cualquier otras notas de datos originales, impresiones de instrumentos y equipos) y la correspondencia con el patrocinador del estudio. Con pocas excepciones, serán capturados datos usando el sistema informatizado departamental validado E-Workbook (ID Business Solutions Ltd.) y estos datos serán archivados electrónicamente. Para datos originales no electrónicos el archivo se realizará en forma de papel según SOPs apropiados. Sólo con el consentimiento previo del peticionario se descartará cualquier documento relacionado con el estudio.

Los siguientes materiales y muestras deben ser almacenadas según el período del tiempo especificado en las normas GLP: una muestra conservada del elemento de prueba se archivará según las normas GLP, si es posible y se descartarán sin el consentimiento previo del peticionario. Otros materiales y muestras deben ser almacenados según las normas GLP y desecharse después del período respectivo archivado con el consentimiento previo del patrocinador. Salvo acuerdo en contrario por escrito, el elemento de prueba restante se descartará tres meses después del lanzamiento del informe.

6. Declaración de Conformidad

BSL BIOSERVICE

StudioNo.: 146079

Muestra de ensayo: FIRE LIMIT FL-02

Título: Acute Dermal Toxicity (LimitTest) in the Rat with
FIRE LIMIT FL-02

Director de estudio: Dr.PradeepTakawale

Este estudio has sido realizado de acuerdo a los procedimientos indicados por BSL BIOSERVICE SOPs y se aceptaron las siguientes directrices y recomendaciones:

Chemikaliengesetz("ChemicalsAct")oftheFederalRepublicofGermany,Appendix1to§19aas amended and promulgated on August28,2013 (BGBl.IS.3498)[1].

Konsens-DokumentderBund-Länder-ArbeitsgruppeGuteLaborpraxis("ConsensusDocumentof theNationalandLänderWorkingPartyonGoodLaboratoryPractice")onthearchivingandstorage of records and materials,5 May1998 [2].

"OECD Principles ofGoodLaboratoryPractice (as revised in 1997)",Paris 1998 [3].

Sin ninguna circunstancia que pudiera afectar la calidad o la integridad del estudio.

7. Declaración de aseguramiento de calidad

BSL BIOSERVICE
StudyNo.: 146079
Muestra de ensayo: FIRE LIMIT FL-02
Titulo: Acute Dermal Toxicity (Limit Test) in the Rat with
FIRE LIMIT FL-02
Director de estudio: Dr.PradeepTakawale

Este informe y la realización de este estudio fueron inspeccionados por la unidad de aseguramiento de la calidad en las siguientes fechas::

Fase de inspección QAU	Fecha de la inspección QAU	Fecha de presentación de informes al Director de estudio y gestión
Plan de estudio Final de auditoría:	02 Diciembre 2014	02 Diciembre 2014
Fase experimental de auditoría:	07 Enero 2015	07 Enero 2015
Informe final de auditoría:	28 Enero 2015	28 Enero 2015

Este informe refleja los datos originales.

Memberofthe
QualityAssurance Unit:

8. Resumen de resultados

8.1. Resumen

De acuerdo con los criterios de ensayo establecidos en el anexo VI de la comisión directiva 2001/59/EC[9]la sustancia se ha clasificado como sigue

Clasificado como tóxico	<input type="checkbox"/>
Clasificado como perjudicial	<input type="checkbox"/>
No clasificado	<input type="checkbox"/>
Ensayo límite	<input checked="" type="checkbox"/>
	<input checked="" type="checkbox"/>

De acuerdo con los criterios de ensayo establecidos en GHS(Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals)[11],la sustancia se ha clasificado como sigue:

clasificado categoría 1	<input type="checkbox"/>
clasificado categoría 2	<input type="checkbox"/>
clasificado categoría 3	<input type="checkbox"/>
clasificado categoría 4	<input type="checkbox"/>
no clasificado	<input checked="" type="checkbox"/>

DL₅₀: >2000mg/kg bw
 Especie/raza: WISTARCr:WI(Han)rats
 Vehículo (humidificante): ningún vehículo usado
 Número de animales: 5 machos y 5 hembras
 Duración a la exposición: 24 horas
 Método: OECD402 [4]
 EC 440/2008, Method B.3[5]OPPTS
 870.1200 [6]

Tabla1: Resultados

Grupo de ensayo	Animal No.	Dosis (mg/kg bw)	Número de Animales	Número de muertes
Machos	21-25	2000	5	0
Hembras	26-30	2000	5	0

bw= peso corporal

Signos de toxicidad sistemática relacionada a nivel de la dosis utilizada, tiempo de inicio y duración:

No se observaron efectos relacionados con el tratamiento.

Efecto sobre los órganos (relacionado con el nivel de dosis):

Ne observaron efectos relacionados con el tratamiento

Signos de irritación:

No se observó ninguna señal de irritaciones.

8.2. Conclusión

De acuerdo a las condiciones del presente estudio, y exclusivamente para uso cutáneo de la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 a ratas en dosis de 2000 mg/kg de peso corporal no se asoció ninguna mortalidad, signos de toxicidad ni signos de irritación.

La dosis aplicada DL 50 se determinó que fuera
>2000mg FIRE LIMITFL-02 /kg peso corporal.

Conforme a los criterios para la clasificación y el etiquetado de los requisitos para las sustancias peligrosas y mezclas según anexo VI de la Directiva 2001/59/CE Comisión [9], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de toxicidad cutánea.

Según el anexo I del Reglamento (CE) 1272/2008 [10], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de toxicidad cutánea.

Según GHS (Sistema Mundialmente Armonizado clasificación) [11] la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 debe ser etiquetada y clasificada como categoría 5 para toxicidad cutánea.

Para más detalle sobre clasificación ver apartado [16](#).

9. Introducción

9.1. Justificación de criterio seleccionado.

Este estudio proporciona información sobre peligros para la salud que puedan derivarse de una exposición a corto plazo por vía dérmica.

Este estudio se realizó de acuerdo a los requisitos indicados en OECD402 [4]y OPPTS 870.1200 [5].

Este método de ensayo describe una prueba de dosis única, lo que permite una estimación suficiente de la toxicidad dérmica aguda, siempre que no exista mortalidad relacionada con el compuesto dentro del período de observación.

Si se produce mortalidad, debe considerarse un estudio completo.

9.2. Justificación de método de ensayo seleccionado

Ningún método "in vitro" está disponible para la toxicidad aguda dérmica.

10. Materiales y Métodos

10.1 Características de la muestra de ensayo

La muestra de ensayo fue inspeccionada en la entrega en las instalaciones (por ejemplo nombre de elemento de prueba, lote no. y datos adicionales fueron comparados con la etiqueta) basado en las siguientes especificaciones proporcionadas por el cliente.

Nombre:	FIRE LIMIT FL-02
Número de lote.:	20140916
Naturaleza de la sustancia de ensayo:	Industria Química
No.CAS	57-13-6 (Urea) 7783-20-2 (Sulfato amónico))
Estado físico a la recepción:	líquido
Color:	blanco
Densidad:	1.03 g/mL
pH a la recepción:	6.7
Condiciones de almacenamiento:	a temperatura ambiente, protegido de la luz
Fecha producción:	16 Septiembre 2014
Fecha caducidad:	16 Septiembre 2016
Precauciones de seguridad:	Los procedimientos rutinarios de higiene fueron suficientes para asegurar la seguridad y la salud personal.

10.2. Preparación muestra de ensayo

Tal y como la muestra fue proporcionada por el peticionario.

10.1. Sistema de ensayo

Especies/raza:	WISTAR rats CrI:WI(Han)
Procedencia:	Charles River,97633Sulzfeld,Germany
Sexo:	macho y hembra (no embarazada)
Número de animales:	5 machos 5 hembras
Edad al comienzo de los ensayos:	Machos:18-19 semanas Hembras:21-22 semanas
Peso corporal el día de la administración:	machos:234– 268 g hembras:205– 218 g

Los animales se derivan de un sistema controlado de cría (SPF). Según el arti. 9.2, N° 7 de la ley alemana sobre el Bienestar Animal [9] los animales fueron criados para fines experimentales.

10.4.1 Condiciones de alimentación y vivienda

- Barrera completa en una habitación con aire acondicionado
- Temperatura: 22 ± 3 °C
- Humedad relativa: $55 \pm 10\%$
- Luz artificial secuencia de 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad
- Cambio de aire: 10x/hora
- Acceso libre a Altromin 1324 dieta de mantenimiento para ratas y ratones (lot no. 1239)
- Acceso libre agua (agua potable, control de residuos municipales, controles microbiológicos a intervalos regulares).
- Los animales fueron mantenidos individualmente en jaulas de IVC, tipo III H, jaulas de polisulfona en Altrominy con camas con fibra textil (lot no. 02102140831)
- Los certificados de alimentos, agua y ropa de cama se archivan en BSL BIOSERVICE.
- Período de aclimatación adecuada (mínimo 5 días) bajo condiciones de laboratorio

10.4. Preparación de los Animales

Los animales fueron identificados mediante marca con tinta.

Aproximadamente 24 horas antes del examen e inmediatamente antes de la aplicación, ambos ojos de cada animal fueron examinados. Se realizó una inspección sanitaria para garantizar el buen estado de salud de los animales

Como mínimo un 10% de la superficie del cuerpo fue adaptado para la aplicación.

Antes de la aplicación se realizó una observación clínica detallada de todos los animales. Se utilizaron sólo animales sanos.

10.5. Aplicación

La aplicación se aplicó en una sola dosis, uniformemente sobre un área que era aproximadamente el 10% de la superficie total del cuerpo.

La aplicación se llevó a cabo en contacto con la piel mediante un vendaje a lo largo de un período de 24 horas. La preparación consistió en una cinta de Gasa no-irritante y se fijó con un esparadrapo adicional de manera adecuada.

10.6. Nivel de dosis

Se aplicó en una dosis única de 2000 mg/kg de peso corporal de cada animal.

10.7. Periodo de exposición

El ensayo se llevó a cabo sobre la muestra en contacto con la piel a lo largo de un período de 24 horas. Al final del período de exposición, el residuo de la muestra fue quitado usando una inyección con agua (AlleManPharma, Lote nº 260813_1, fecha de caducidad: 31/07/2016).

10.8. Periodo de observación

Se observaron todos los animales durante 14 días después de la dosificación.

10.9. Irritación dermal primaria

Signos de eritema y/o edema fueron evaluados mediante el sistema de puntuación (Table2) indicado en OECD Guideline 404 [9].

Tabla2: Sistema de puntuación

Formación de Eritema y Escaras	
Sin eritema	0
Eritema muy ligera(vagamente perceptible)	1
Eritema muy definida	2
Eritema de moderada a severa	3
Eritema severa (enrojecimiento) a formación de escaras grado preventivo de eritema	4
Formación de Edema	
Sin Edema	0
Edema muy ligera (vagamente perceptible)	1
Edema leve (los bordes del área bien definida por aumento definitivo)	2
Edema moderado (levantado aproximadamente 1 mm)	3
Edema severo (levantado más de 1 mm y se extiende más allá del área de exposición)	4

10.10. Control de peso

Los animales se pesaron el día 1 (antes de la aplicación) y los días 8 y 15.

10.11. Examen clínico

Se realizó un examen clínico cuidadoso varias veces, el día de la dosificación (al menos una vez durante los primeros 30 minutos y con especial atención durante la primera dosis después de 4 horas). Tan pronto como los síntomas fueron notados fueron registrados. Posteriormente, los se observaron los signos clínicos una vez al día hasta el final del período de observación. Se registraron todas las anomalías.

Las observaciones incluyeron cambios en la piel, ojos y membranas mucosas. También se examinaron los sistemas respiratorios, circulatorios, autonómicos y centrales nerviosos, actividad y comportamiento. Se prestó mucha atención a las observaciones de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, sueño y coma.

10.12. Patología

Al final del período de observación los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital inyectada por vía intraperitoneal (Narcoren ® Merial; N° de lote: 236014, fecha de caducidad: 31/01/2017) a una dosis de 250-400 mg/kg bw.

Todos los animales fueron sometidos a necropsia y fueron examinados macroscópicamente para cambios patológicos brutos. En ausencia de cambios patológicos brutos los tejidos fueron preservados para una posible evaluación histopatológica.

10.13. Evaluación de resultados

Las reacciones individuales de cada animal se registraron en cada momento de la observación.

Se registraron datos de respuesta tóxica por sexo y dosis.

Naturaleza, gravedad y duración de las observaciones clínicas fueron descritas.

Los cambios de peso se resumieron de forma tabular.

Los resultados de la autopsia fueron descritos.

Con pocas excepciones, los datos fueron capturados utilizando el sistema informatizado departamental validado E-WorkBook (versión 9.4.0, ID Business Solutions Ltd.).

Para más información sobre clasificación ver apartado [16](#).

11. Desviaciones del plan de estudio

A continuación la siguiente desviación fue hallada:

Afecta:

Monitor de estudio, plan de estudio,p.6

Antes:

Manuela Acosta

Nuevo:

Ms YesikaTrujillo Muñoz

Razón:

Petición del cliente.

Esta desviación no influyó en la calidad o la integridad del presente estudio.

12. Resultados

La muestra de ensayo no presenta signos de toxicidad dérmica aguda, ni tampoco signos de irritación dérmica tras una única dosis de la aplicación. Para resultados individuales [Tabla3a](#) [Tabla8](#).

12.1. Signos clínicos de toxicidad sistemática

Se presentan los resultados clínicos detallados del estudio en [Tabla3](#) y [Tabla4](#).

Tabla3: Signos clínicos de toxicidad sistemática–Registro individual–Machos

Grupo de ensayo	Tiempo de ensayo	Animal No.	Dosis (mg/kg bw)	Observaciones
Machos	0min– 15d	21	2000	Sin registros específicos
		22		
		23		
		24		
		25		

min=minuto(s);d= dias(s),bw= peso corporal; nsf= sin registros específicos

Tabla4: Signos clínicos de toxicidad sistemática–Registro individual –Hembras

Grupo de ensayo	Tiempo de ensayo	Animal No.	Dosis(mg /kg bw)	Observaciones
Hembras	0min– 15d	26	2000	Sin registros específicos
		27		
		28		
		29		
		30		

min=minuto(s);d= dias(s),bw= peso corporal; nsf= sin registros específicos

12.2. Irritación de la piel en el momento de la aplicación

Tabla5: Irritación de la piel en el momento de la aplicación–Registro individual–Machos

Grupo de ensayo	Tiempo de ensayo	Animal No.	Edema/E rythema	Observaciones locales en la piel
Machos	2d–15d	21	0/0	Sin registros específicos
		22		
		23		
		24		
		25		

0, 1, 2, 3,4=sistema de puntuación descrito en OECD Guideline404(Table2); d= dias(s)

Tabla6: Irritación de la piel en el momento de la aplicación –Registro individual–Hembras

Grupo de ensayo	Tiempo de ensayo	Animal No.	Edema/Eritema	Observaciones locales en la piel
Hembras	2d –15d	26	0/0	Sin registros específicos
		27		
		28		
		29		
		30		

0, 1, 2, 3,4=sistema de puntuación descrito en OECD Guideline 404(Table2); d= días(s)

12.3. Desarrollo del peso corporal

El desarrollo de peso corporal de todos los animales machos y hembras estuvo dentro del rango esperado (Tabla 7).

Tabla 7: Peso corporal absoluto en g y ganancia de peso corporal en%

Grupo de ensayo	Animal No.	Dosis (mg/kg bw)	Peso corporal(g)en días			Ganancia de peso comparado con Dia1 (%)
			1	8	15	
Machos	21	2000	268	284	320	19
	22		265	285	310	17
	23		247	263	289	17
	24		262	279	308	18
	25		234	252	274	17
Hembras	26	2000	207	213	225	9
	27		213	222	227	7
	28		207	209	219	6
	29		218	223	233	7
	30		205	208	217	6

bw= peso corporal

12.4. Patología

Con la excepción de inyección aguda de los vasos sanguíneos en la región abdominal, que es debido a la inyección de eutanasia, ningunos cambios patológicos brutos específicos se registraron para cualquier animal (para ver los datos individuales [Tabla8](#)).

Tabla8:Registros macroscópicos–Registro individual–Machos y Hembras

Grupo de ensayo	Animal No.	Dosis (mg/kg bw)	Órgano	Registros macroscópicos
Machos	21	2000	-	Sin observaciones específicas
	22			
	23			
	24			
	25			
Hembras	26	2000		
	27			
	28			
	29			
	30			

bw= peso corporal

12.5. DL 50

CorteTabla9:DL50

Grupo ensayo	Dosis (mg/kg bw)	Número deAnimales	Número de muertes	DL50Corte (mg/kg bw)
Machos	2000	5	0	>2000
Females	2000	5	0	

bw= peso corporal

13. Conclusión

Las condiciones del presente estudio, sólo para uso cutáneo de la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 a ratas con dosis de 2000 mg/kg de peso corporal, no se asoció con ninguna mortalidad y signos de toxicidad ni signos de irritación.

La dosisLD50determinada para aplicación fue:
>2000mg FIRE LIMITFL-02 /kg peso corporal.

Conforme a los criterios para la clasificación y el etiquetado de los requisitos para las sustancias peligrosas y mezclas según anexo VI de la Directiva 2001/59/CE Comisión [9], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de toxicidad cutánea.

Según el anexo I del Reglamento (CE) 1272/2008 [10], la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no debe llevar etiquetado de advertencia de toxicidad cutánea.

Según GHS (Sistema Mundialmente Armonizado clasificación) [11] la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 debe ser etiquetada y clasificada como categoría 5 para toxicidad cutánea.

Para más detalle sobre clasificación ver apartado16.

14. Distribución del informe

1 original (electrónico):	BSL BIOSERVICE
1 copia (electrónico):	a enviar al solicitante

15. Referencias

15.1. Guías

- 1.Chemikaliengesetz("ChemicalsAct")oftheFederalRepublicofGermany,Appendix1to§19aasamendedandpromulgatedonAugust28,2013(BGBl. IS. 3498)
- 2.Konsens-DokumentderBund-Länder-ArbeitsgruppeGuteLaborpraxis("ConsensusDocumentoftheNationalandLänderWorkingPartyonGoodLaboratoryPractice")onthearchivingandstorageofrecordsandmaterials, 5May1998
- 3.OECDPrinciplesofGoodLaboratoryPractice(asrevisedin1997);OECDEnvironmentalHealthandSafetyPublications; SeriesonPrinciplesofGoodLaboratoryPracticeandComplianceMonitoring-Number1. EnvironmentDirectorate,Organisationfor EconomicCo-operationandDevelopment,Paris 1998
- 4.OECDGuidelinesforTestingofChemicals,Section4:HealthEffects,No.402,AcuteDermalToxicity,(1987), OrganisationforEconomicCo-OperationandDevelopment,Paris
- 5.CommissionRegulation(EC)No440/2008,L142,AnnexPartB,MethodB.1trisofof30May2008layingdowntestmethodspu rsuanttoRegulation(EC)No.1907/2006oftheEuropeanParliamentandoftheCouncilontheRegistration,Evaluation,A uthorisationandRestrictionofChemicals(REACH)
- 6.EPAHealthEffectsTestGuidelines,OPPTS870.1200AcuteDermalToxicity,UnitedStatesEnvironmentalProtectionAg ency,Prevention,Pesticides and ToxicSubstances(7101), EPA712-C-98-192(August1998)
- 7.Directive2010/63/EUoftheEuropeanparliamentofthecouncilof22September2010onthe protectionofanimalsusedfors cientific purposes
- 8.GermanAnimalWelfareAct,Art.9.2,No.7(DeutschesTierschutzgesetz,24.Juli1972(BGBl.IS.1277), InkrafttretenderletztenÄnderung:22.Juli2009, (Art.2ÄndGvom15.Juli2009)
- 9.OECDGuidelinesforTestingofChemicals,Section4:HealthEffects,No.404,AcuteDermallrritation/Corrosion(2002),Or ganisationforEconomicCo-OperationandDevelopment,Paris
- 10.CommissionDirective2001/59/ECadaptingtototechnicalprogressforthe28thtimeCouncilDirective67/548/EContheap proximationofthelaws,regulationsandadministrativeprovisionsrelatingtothe classification,packagingandlabellingofdan geroussubstances,06August2001(OfficialJournaloftheEuropeanCommunities no.L225/1,21August2001)
- 11.Regulation(EC)No1272/2008oftheEuropeanParliamentandoftheCouncilof16December2008onclassification,label lingandpackagingofsubstancesandmixtures,amendingandrepealingDirectives67/548/EECand1999/45/EC,anda mendingRegulation(EC)No1907/2006.OfficialJournaloftheEuropeanCommunities, L353,31December2008
- 12.GHS- GloballyHarmonizedSystemofClassificationandLabellingofChemicals.Fifthrevisededition,UnitedNations.NewYor k/ Geneva,2013

15.2. In terno BSLBIOSERVICE SOPs

Procedimientos internos (SOPs), No.11-4-9

16. Apéndice: Criterio de clasificación

Sobre la base de los resultados de la prueba, la sustancia de ensayo puede clasificarse en una de las siguientes clases de conformidad con los criterios indicados en el anexo VI de la Directiva 2001/59/CE de la Comisión [9]:

• Muy tóxico

Las sustancias y mezclas se clasificarán como muy tóxicos y se les asignará el símbolo "T +" y la indicación de peligro "muy tóxico" siguiendo los criterios especificados a continuación. Las frases de riesgo que se asignarán conforme a los criterios siguientes:

R27 Muy tóxico en contacto con la piel

- DL50 dermico,rata o conejo:≤ 50 mg/kg

• Tóxico

Las sustancias y mezclas se clasificarán como muy tóxicos y se les asignará el símbolo "T" y la indicación de peligro "tóxico" siguiendo los criterios especificados a continuación. Las frases de riesgo que se asignarán conforme a los criterios siguientes:

R24 Toxico en contacto con la piel

- DL50 dérmico, rata o conejo:50<DL50≤ 400mg/kg

• Nocivo

Las sustancias y mezclas se clasificarán como muy tóxicos y se les asignará el símbolo "Xn" y la indicación de peligro "Nocivo" siguiendo los criterios especificados a continuación. Las frases de riesgo que se asignarán conforme a los criterios siguientes:

R21Nocivo en contacto con la piel

- DL 50 dérmico, rata o conejo:400<LD50 ≤ 2000mg/kg

Sobre la base de los resultados de la prueba, la sustancia de ensayo puede clasificarse en una de las siguientes categorías de conformidad con los criterios indicados en el anexo I del Reglamento (EC)1272/2008 [11]:

Categoría	Criterio	Elementos de comunicación de peligro	
1	DL50 ≤ 50mg/kg	Símbolo:	Calavera con huesos
		Palabra de advertencia:	Peligro
		Frase de riesgo:	Fatal en contacto con la piel
2	50 mg/kg <DL50 ≤ 200mg/kg	Símbolo:	Calavera con huesos
		Palabra de advertencia:	Peligro
		Frase de riesgo:	Fatal en contacto con la piel
3	200mg/kg <DL50 ≤ 1000mg/kg	Símbolo:	Calavera con huesos
		Palabra de	Peligro
		Frase de riesgo:	Fatal en contacto con la piel
		Símbolo:	Símbolo exclamación

4	1000mg/kg <DL50 ≤ 2000 mg/kg	Palabra de advertencia:	Atención
		Frase de riesgo:	Nocivo en contacto con la piel

Sobre la base de los resultados de la prueba, la sustancia de ensayo puede clasificarse en una de las siguientes categorías de conformidad con los criterios indicados en el anexo GHS- Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, fifth revised edition, 2013 [12]:

Categoría	Criterio	Comunicación de elementos tóxicos	
1	DL50 ≤ 50mg/kg	Símbolo:	Calavera con huesos
		Palabra de advertencia:	Peligro
		Frase de riesgo:	Fatal en contacto con la piel
2	50 mg/kg <DL50 ≤ 200mg/kg	Símbolo:	Calavera con huesos
		Palabra de advertencia:	Peligro
		Frase de riesgo:	Fatal en contacto con la piel
3	200mg/kg <DL50 ≤ 1000mg/kg	Símbolo:	Calavera con huesos
		Palabra de advertencia:	Peligro
		Frase de riesgo:	Fatal en contacto con la piel
4	1000mg/kg <DL50 ≤ 2000 mg/kg	Símbolo:	Símbolo exclamación
		Palabra de advertencia:	Atención
		Frase de riesgo:	Nocivo en contacto con la piel
5	2000mg/kg <DL50 ≤ 5000 mg/kg	Símbolo:	Sin símbolo
		Palabra de advertencia:	Atención
		Frase de riesgo:	Puede ser nocivo en contacto con la piel



**Acute Oral Toxicity (Acute Toxic Class Method)
in the Rat with
FIRE LIMIT FL-02**

Report

Version: Final

Study Completion Date: 29 January 2015

BSL BIOSERVICE Study No.: 146078

Sponsor:
RIO SAGRADO, S.L.
POL.IND. AS GANDARAS
PARCELA 204
36400 PORRIÑO
SPAIN

Toxicidad Oral Aguda
(Método Clasificación Toxicidad Aguda)
En Ratas para
FIRE LIMIT FL-02

Report

Version: Final

Fecha finalización estudio:29 Enero2015

BSL BIOSERVICE NÚMERO.:146078

Cliente:
RIOSAGRADO,S.L.
POL.IND. AS GANDARAS
PARCELA 204
36400 PORRIÑO
SPAIN

TRADUCIDO POR EUROFINS

1. Copia de Certificado GLP

Bayerisches Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit



GLP-Bescheinigung/Statement of GLP Compliance (gemäß/according to § 19b Abs. 1 Chemikaliengesetz)

Eine GLP-Inspektion zur Überwachung
der Einhaltung der GLP-Grundsätze
gemäß Chemikaliengesetz bzw. Richt-
linie 2004/9/EG wurde durchgeführt in:

Assessment of conformity with GLP
according to Chemikaliengesetz and
Directive 2004/9/EC at:

Prüfeinrichtung/Test facility Prüfstandort/Test site

BSL BIOSERVICE
SCIENTIFIC LABORATORIES GMBH
BEHRINGSTRASSE 6-8
82152 PLANEGG

(Unverwechselbare Bezeichnung und Adresse/Unequivocal name and address)

Prüfungen nach Kategorien/Areas of Expertise
(gemäß/according ChemVwV-GLP Nr. 5/3/OECD guidance)

Kategorie 2

Kategorie 3

Kategorie 9*

**Mikrobiologische Sicherheitsprüfungen; Wirksamkeitsprüfungen an Zellkulturen*

Datum der Inspektion/Date of Inspection

(Tag.Monat.Jahr/day month year)

03.- 04.07.2012

Die/Der genannte Prüfeinrichtung/Prüfstandort
befindet sich im nationalen GLP-Überwachungs-
verfahren und wird regelmäßig auf Einhaltung der
GLP-Grundsätze überwacht.

The above mentioned test facility/test site is
included in the national GLP Compliance
Programme and is inspected on a regular basis.

Auf der Grundlage des Inspektionsberichtes wird
hiermit bestätigt, dass in dieser Prüfeinrichtung/
diesem Prüfstandort die oben genannten Prüf-
ungen unter Einhaltung der GLP-Grundsätze
durchgeführt werden können.

Based on the inspection report it can be confirmed,
that this test facility/test site is able to conduct the
aforementioned studies in compliance with the
Principles of GLP.

Erlangen, 22.01.2013



Dr. Peter Franke
Leitender Regierungsdirektor

2. Contenido

1. Copia certificado GLP	2
2. Contenidos	3
3. Listado de tablas	4
4. Prefacio	5
4.1. Abreviaturas	5
4.2. General	6
4.3. Personal proyecto	6
4.4. Cronograma	6
5. Garantía de calidad	7
5.1. GLP Cumplimiento	7
5.2. Pautas	7
5.3. Sistema de archivo	7
6. Declaración de Conformidad	9
7. Declaración de aseguramiento de calidad	10
8. Resumen	11
8.1. Resumen de resultados	11
8.2. Conclusión	12
9. Introducción	13
9.1. Justificación selección sistema de ensayo	13
9.2. Justificación selección método de ensayo	13
10. Materiales y métodos	14
10.1. Caracterización del elemento de prueba	14
10.2. Preparación de la muestra	14
10.3. Vehículo	14
10.4. Sistema de ensayo	14
10.4.1. Condiciones de ensayo	15
10.5. Preparación animales	15
10.6. Administración	15
10.7. Nivel de dosis	15
10.8. Periodo de observacion	15
10.9. Registro peso	16
10.10. Exámen clínico	16
10.11. Patología	16
10.12. Evaluación de resultados	16
11. Desviaciones del plan de estudio	17
12. Resultados	18
12.1. Signos clínicos	18
12.2. Desarrollo del peso del cuerpo	18
12.3. Patología	19
12.4. LD₅₀ corte	19
13. Conclusion	20
14. Distribución del informe	21
15. Referencias	22
15.1. Directrices	22
15.2. Literatura	22
15.3. Interno BSL BIOSERVICE SOPs	22
16. Apéndice: Criterios de clasificación	23

3. Listado de tablas

	Página
Tabla 1: Resultados	11
Tabla 2: Signos clínicos - datos individuales.....	18
Tabla 3: Peso corporal y peso corporal absoluto en g en %.....	18
Tabla 4: Resultados de la necropsia - datos individuales.....	19
Tabla 5: LD50 Corte.....	19

4. Prefacio

4.1. Abreviaturas

Art.	Artículo (<i>articulo</i>)
BGBI.	Bundesgesetzblatt (Gaceta de ley Federal)
Bw	Peso cuerpo
Dipl.-Biol.	Diplom Biologe (Diploma de biología)
EC	European Commission (Comisión Europea)
EEC	European Economic Community (Comunidad Europea Económica)
EPA	Environmental Protection Agency (Agencia protección medioambiental)
GHS	Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (sistema global armonizado clasificación etiquetado químico)
GLP	Buenas prácticas laboratorio
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
IVC	individually ventilated cage(s)
LD	Dosis letal
LD50	Dosis letal media
No.	número
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
OPPTS	Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances
QAU	Quality Assurance Unit
SOPs	Standard Operating Procedures
SPF	specific-pathogen free

4.2. General

Cliente :RIOSAGRADO,S.L.

POL.IND. AS GANDARAS
PARCELA 204
36400 PORRIÑO
SPAIN

Seguimiento estudio:

MsYesikaTrujillo Muñoz
EurofinsProduct TestingSpain
CampusUAB
C/FontdeCarme,s/n
08193 Bellaterra
Spain

Ensayo:

BSL BIOSERVICE
Scientific Laboratories GmbH
Behringstraße 6/8
82152 Planegg
Germany

BSL BIOSERVICenúmero.:146078

Muestra de ensayo:

FIRE LIMIT FL-02

Título:

Acute Oral Toxicity(AcuteToxic Class Method) in the Rat with
FIRE LIMIT FL-02

4.3. Personal proyecto

Director de estudio:

Dr.PradeepTakawale

Responsables:

Dr.Angela Lutterbach
Dr.Katrin Witschital

Head of GLP

Unidad aseguramiento calidad:

Dipl.-Biol.Uwe Hamann

4.4. Cronograma

Recepción muestra ensayo:

31 October2014

Inicio ensayo:

03 December2014

Periodo de aclimatización:

Step 1,animals no.1-3:27 November -09 December2014
Step 2,animals no.4-6:04 – 15December2014

Fecha de experimento inicial:

09 December2014

Fecha de administración de dosis:

Step 1,animals no.1 -3:10 December2014
Step 2,animals no.4 -6:16 December2014

Fecha finalización ensayo:

30 December2014

5. Garantía de calidad

5.1. Cumplimiento GLP

Este estudio fué elaborado según los requisitos para cumplir con:

Chemikaliengesetz ("Chemicals Act")ofthe Federal RepublicofGermany,Appendix 1to §19a as amended and promulgated on August28,2013 (BGBl.IS.3498)[1].

Konsens-Dokument der Bund-Länder-Arbeits gruppe Gut eLaborpraxis ("Consensus Document of the Nationaland Länder Working Party on Good Laboratory Practice") on the archiving and storage of records and materials,5 May1998 [2].

OECD Principles of Good Laboratory Practice(as revised in1997);OECDEnvironmentalHealth and Safety Publications; Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring- Number1. Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operationand Development,Paris 1998[3].

Este estudio se evaluó en cumplimiento con el plan de estudios y los procedimientos operativos estándares de BSL BIOSERVICE. El estudio o la facilidad de prueba es inspeccionada periódicamente por la unidad de aseguramiento de la calidad según los puntos correspondientes. Estas inspecciones y auditorías se llevan a cabo por la unidad de aseguramiento de la calidad, personal independiente de personal involucrado en el estudio. Una declaración de aseguramiento de la calidad firmada, un listado de todas las auditorías realizadas, están incluidas en el informe.

5.2. Pautas

Este estudio has sido realizado de acuerdo a los procedimientos indicados por BSL BIOSERVICE SOPs y se aceptaron las siguientes directrices y recomendaciones:

OECD Guidelines for Testing of Chemicals,Section 4,No.423,"Acute Oral Toxicity–AcuteToxic Class Method" adopted 17 December2001 [4]

Commission Regulation (EC)No.440/2008,L 142,Annex PartB,Method B.1,tris 30 May2008 [5]
EPAHealthEffectsTestGuidelines,OPPTS870.1100"Acuteoraltotoxicity",EPA712-C-02-190, December2002 [6]

Los procedimientos y servicios cumplen con la directiva2010/63/EU[7]y la legislación nacional definido en la ley de protección animal utilizados para los procedimientos científicos y experimentales.[8].

5.3. Sistema de archivo

Durante un periodo de 15 años (o inferior, si conforme con reglamentos GLP) BSLBIOSERVICE Scientific Laboratories GmbH almacenará los registros, materiales y muestras en sus sistemas de archivo científicos según los requisitos establecidos en GLP.

Los siguientes registros tienen que almacenarse conforme a las normas GLP:

Las versiones electrónicas originales del informe final, el plan de estudios y documentación de datos originales generadas durante la realización del estudio (documentación así como cualquier otras notas de datos originales, impresiones de instrumentos y equipos) y la correspondencia con el patrocinador del estudio. Con pocas excepciones, serán capturados datos usando el sistema informatizado departamental validado E-Workbook (ID Business Solutions Ltd.) y estos datos serán archivados electrónicamente.

Para datos originales no electrónicos el archivo se realizará en forma de papel según SOPs apropiados. Sólo con el consentimiento previo del peticionario se descartará cualquier documento relacionado con el estudio.

Los siguientes materiales y muestras deben ser almacenadas según el período del tiempo especificado en las normas GLP: una muestra conservada del elemento de prueba se archivará según las normas GLP, si es posible y se descartarán sin el consentimiento previo del peticionario. Otros materiales y muestras deben ser almacenados según las normas GLP y desecharse después del período respectivo archivado con el consentimiento previo del patrocinador. Salvo acuerdo en contrario por escrito, el elemento de prueba restante se descartará tres meses después del lanzamiento del informe.

6. DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD

BSL BIOSERVICE	
StudyNo.:	146078
Muestra de ensayo:	FIRE LIMIT FL-02
Título:	Toxicidad oral aguda (Método clasificación toxicidad aguda) en ratas con FIRE LIMIT FL-02
Director de estudio:	Dr.PradeepTakawale

Este estudio has sido realizado de acuerdo a los procedimientos indicados por BSL BIOSERVICE SOPs y se aceptaron las siguientes directrices y recomendaciones:

Chemikaliengesetz ("ChemicalsAct") of the Federal Republic of Germany,Appendix1to§19aas amended and promulgated on August28,2013 (BGBl.IS.3498)[1].

Konsens-Dokument der Bund-Länder-Arbeits gruppe Gute Labor praxis ("Consensus Document of the National and Länder Working Party on Good Laboratory Practice") on the archiving and storage of records and materials,5 May1998 [2].

"OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)",Paris 1998 [3].

Sin ninguna circunstancia que pudiera afectar la calidad o la integridad del estudio.

Director de estudio:

.....

7. DECLARACIÓN DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

BSL BIOSERVICE

StudyNo.: 146078

Muestra de ensayo: FIRE LIMIT FL-02

Título: Toxicidad oral aguda (Método clasificación toxicidad aguda) en ratas con FIRE LIMIT FL-02

Director de Estudio: Dr.Pradeep Takawale

Este informe y la realización de este estudio fueron inspeccionados por la unidad de aseguramiento de la calidad en las siguientes fechas:

Fase de inspección QAU	Fecha de la inspección QAU	Fecha de presentación de informes al Director de estudio y gestión
Plan de estudio Final de auditoría:	02 December2014	02 December2014
Fase experimental de auditoría:	27 November2014	27 November2014
Informe final de auditoría:	28 January2015	28 January2015

Este informe refleja los datos originales.

Memberofthe
QualityAssurance Unit:

.....

8. Resumen

8.1. Resumen de resultados

Dos grupos, cada uno compuesto de tres hembras WISTARCrI: WI(Han) rats, fueron tratados con el elemento de prueba por administración de sonda nasogástrica oral con una dosis de 2000 mg/kg de peso corporal. Fue suspendido con agua en inyección (agua estéril) en una concentración de 0.2 g/mL y administrado en un volumen de dosis de 10 mL/kg.

Todos los animales utilizados en el estudio después de su entrada en BSL podían aclimatarse a las condiciones de laboratorio durante al menos 5 días. Los animales fueron observados al inicio, durante el estudio y antes de la administración para la mortalidad/morbilidad y otros signos clínicos. Todos los animales fueron examinados para muestras clínicas varias veces al día después de la dosificación y una vez diariamente hasta el final del período de observación. Sus pesos corporales se registraron el día 1 (antes de la administración) y los días 8 y 15. Todos los animales se examinaron macroscópicamente.

Tabla 1: Resultados por etapas

Etapa	Sex /No.	Dosis al inicio (mg/kg bw)	Número de animales	Número de muertes
Etapa 1	Hembra /1 -3	2000	3	0
Etapa 2	Hembra /4 -6	2000	3	0

bw= bodyweight

Todos los animales sobrevivieron hasta el final del estudio sin mostrar ningún indicio relacionado con signos de toxicidad. Durante el período de observación de 14 días, el peso corporal de los animales estaba dentro del rango normal de variación para esta cepa.

Tras la autopsia, no fue hallado ningún indicio macroscópico relacionado con el tratamiento.

Resultados Macroscópicos:

Tras la autopsia, no fue hallado ningún indicio macroscópico relacionado con el tratamiento.

Sobre la base de los resultados de las pruebas y de conformidad con los criterios indicados en el anexo VI de la Directiva 2001/59/CE Comisión [9], la sustancia se puede clasificar según:

Clasificado como muy toxico

Clasificado como toxico

Clasificado como nocivo

No perjudicial

Limite ensayo

<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>

Sobre la base de los resultados de las pruebas dados por debajo y de conformidad con los criterios indicados en el anexo I del Reglamento (CE) 1272/2008 [10], la sustancia debe ser:

clasificada como categoria1

clasificada como category 2

clasificada como category 3

clasificada como category 4

no clasificada

<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>

Sobre la base de los resultados de las pruebas dados por debajo y de conformidad con los criterios indicados en GHS (Sistema Mundialmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos) [11], la sustancia debe ser:

clasificada como categoría 1	<input type="checkbox"/>
clasificada como categoría 2	<input type="checkbox"/>
clasificada como categoría 3	<input type="checkbox"/>
clasificada como categoría 4	<input type="checkbox"/>
clasificada como categoría 5	<input type="checkbox"/>
no clasificada	<input checked="" type="checkbox"/>

LD50:	no clasificada
Especie/raza:	WISTAR CrI:WI(Han) rata
vehículo:	agua mediante inyección
Número de animales:	3 por rfase /2 fases realizadas
Método:	OECD 423 [4] EC 440/2008, Método B.1 tris [5] OPPTS 870.1100 [6]

8.2. Conclusión

Mediante las condiciones especificadas y tras una sola aplicación oral para la muestra FIRE LIMIT FL-02 a ratas a dosis de 2000 mg/kg de peso corporal no se asoció ningún signo de toxicidad o mortalidad. La dosis letal media del FIRE LIMIT FL-02 después de una sola administración oral a ratas hembras, observado durante un período de 14 días:

LD50 cut-off (rata): no clasificado

Conforme a los criterios indicados en el anexo VI a la Comisión Directiva 2001/59/CE [9] el artículo de la prueba FIRE LIMIT FL-02 no tiene ningún requisito de etiquetado obligatorio para toxicidad. Según anexo I del Reglamento (CE) 1272/2008 [10] el artículo de la prueba fuego límite FL-02 no tiene ningún requisito de etiquetado obligatorio para toxicidad y no está clasificado.

Según GHS (Sistema Mundialmente Armonizado clasificación) [11] el artículo de la prueba FIRE LIMIT FL-02 no tienen ningún requisito de etiquetado obligatorio para toxicidad y no está clasificado. Para más información sobre los criterios de clasificación ver sección 16.

9. INTRODUCCIÓN

9.1. Justificación de criterio seleccionado

La prueba de toxicidad aguda se realiza en la rata. Aunque pueden utilizarse varias especies de mamíferos, la rata es la especie preferida de roedores.

Es el principio del método clase tóxica aguda que, basado en un procedimiento paso a paso con el uso de un número mínimo de animales de cada paso, es obtener información suficiente sobre la toxicidad aguda del elemento de prueba para permitir su clasificación.

El elemento de prueba utilizando un procedimiento paso a paso con hasta cuatro dosis fijas. La ausencia o presencia de la muerte de los animales dosificados en un paso determina el siguiente paso.

Este estudio proporciona información para propósitos de evaluación de riesgo y para propósitos de clasificación de riesgo. Los resultados permiten clasificar los compuestos en diferentes sistemas de clasificación.

9.2. Justificación de método de ensayo seleccionado

No hay método in vitro validado disponible para evaluar la toxicidad oral aguda.

10. MATERIALES Y METODOS

10.1. Características de la muestra de ensayo

La muestra de ensayo fue inspeccionada en la entrega en las instalaciones (por ejemplo nombre de elemento de prueba, lote no. y datos adicionales fueron comparados con la etiqueta) basado en las siguientes especificaciones proporcionadas por el cliente.

Nombre:	FIRE LIMIT FL-02
Num lote.:	20140916
Naturaleza de la muestra:	Industria Química
CASNo.:	57-13-6 (Urea) 7783-20-2 (Ammoniumsulfate)
Estado físico en la recepción:	liquido
Color:	
blancoDensidad:	1.03
g/mL pH en la recepción:	6.7
Condiciones almacenamiento:	temperatura ambiente, protegido de la luz
Fecha producción:	16 Septiembre2014
Fecha caducidad:	16 Septiembre2016
Precauciones de seguridad:	Los procedimientos rutinarios de higiene fueron suficientes para asegurar la seguridad y la salud personal.

10.2. Preparación muestra de ensayo

Con el fin de obtener la muestra de ensayo en una solución o suspensión, aplicable a los animales, aqua ad injectionem (agua estéril, Alle Man Pharma, lote no. 260813_1, fecha de caducidad: 31/07/2016) fue evaluada como método y fue considerada adecuada.

Este método fue elegido debido a sus características no tóxico.

Homogeneidad del elemento de prueba en el vehículo se mantuvo con un vórtex en suspensión preparada minuciosamente antes de cada administración de la dosis.

Para todos los animales para el primer y el segundo paso, se suspendieron 2 g del elemento de prueba con el método para obtener un volumen final de 10 mL y lograr una dosis de 2000 mg/kg de peso corporal en un volumen de dosis de 10 mL/kg de peso corporal.

Las formulaciones de dosis fueron realizadas poco antes de cada dosificación.

10.3. Método

Agua e inyección (ver10.2)

Este método fue seleccionado debido a sus características no tóxicas.

10.4. Método de ensayo

Especie/raza: WISTAR ratas Crl:WI(Han)
Fuente: CharlesRiver,97633 Sulzfeld,Germany
Sexo: hembra (no embarazadas)
Número de animales: 3 por etapa
Edad en el momento del ensayo: 8-12 semanas
Peso corporal en el día de la Administración: Etapa 1:animales no.1 -3 :140 -162 g; Etapa 2:animales no.4 - 6 :145 -159 g

Los animales se derivan de un sistema controlado de cría (SPF). Según el artículo. 9.2, N° 7 de la ley alemana sobre el Bienestar Animal [9] los animales fueron criados para fines experimentales.

10.4.1. Condiciones de alimentación y vivienda

- Barrera completa en una habitación con aire acondicionado
- Temperatura: 22 ± 3 °C
- Humedad relativa: $55 \pm 10\%$
- Luz artificial, mediante secuencia 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad
- Cambio de aire: 10 x /hora
- Acceso libre a Altromin1324 dieta de mantenimiento para ratas (lotno.1239)
- Libre acceso al agua potable, azufre acidificado a un pH de aproximadamente 2.8 (agua potable, control de residuos municipales, controles microbiológicos a intervalos regulares)
- Los animales fueron mantenidos en grupos en jaulas de IVC, tipo III H, jaulas de polisulfona en Altromin vi camas (lote n° 02102140831) de fibra
- Los certificados de alimentos, agua y ropa de cama se archivan en BSL BIOSERVICE
- Período de aclimatación adecuada (por lo menos cinco días) bajo condiciones de laboratorio

10.5. Preparación de los animales

Los animales fueron marcados para su identificación individual.

Antes de la administración se realizó una observación clínica detallada de todos los animales. Se utilizaron sólo animales sanos.

Antes de la administración, se limitaron los alimentos a los animales de ensayo de 16 a 19 horas (se permite el acceso al agua).

Tras el período de ayuno de los animales se pesaron y se administró la dosis. La comida era accesible otra vez, aproximadamente 4 horas después de la dosificación.

10.6. Administración

En una sola dosis por sonda nasogástrica mediante una sonda de alimentación, a un volumen de dosis de 10 mL/kg de peso corporal.

10.7. Nivel de dosis

La dosis inicial fue seleccionada para ser de 2000 mg/kg de peso corporal. Mortalidad relacionada con el compuesto no se detectó en ningún animal en las etapas 1 y 2.

Basado en estos resultados y de acuerdo con el régimen del método clase tóxica aguda no fueron necesarias más pruebas.

10.8. Periodo de observación

Todos los animales fueron observados durante 14 días después de la dosificación para la comprobar su mortalidad, morbilidad y signos clínicos generales.

10.9. Control de peso

Los animales fueron pesados el día 1(antes de la administración) y a los 8 días y a los 15 días.

10.10. Examen clínico

Se realizó un examen clínico cuidadoso varias veces el día de la dosificación (al menos una vez durante los primeros 30 minutos y con especial atención durante la primera dosis después de 4 horas). Posteriormente, los animales se observaron signos clínicos una vez al día hasta el final del período de observación.

Algunas observaciones incluyeron cambios en la piel, ojos y membranas mucosas. También se examinaron los sistemas respiratorios, circulatorios, autonómicos y centrales nerviosos, actividad y comportamiento. Se prestó especial atención a evidencia de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, sueño y coma.

10.11. Patología

Al final del período de observación los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital inyectada por vía intraperitoneal (Narcoren ®, Merial; N° de lote: 236014, fecha de caducidad: 30/01/2017) a una dosis de 250-400 mg/kg bw.

Todos los animales fueron sometidos a necropsia bruto y se examinaron macroscópicamente para evidencia de cambios patológicos brutos. En ausencia de cambios patológicos brutos los tejidos no fueron preservados para una posible evaluación histopatológica.

10.12. Evaluación de los resultados

Los resultados fueron interpretados según OCDE directriz 423, anexo 2 [4].

Las reacciones individuales de cada animal se registraron en cada momento de la observación.

La respuesta tóxica se registró por dosis.

Fueron descritos la naturaleza, gravedad y duración de las observaciones clínicas.

Los cambios de peso se resumieron en una forma tabular.

Fueron descritos los resultados de la autopsia.

Para más información sobre los criterios de clasificación ver sección 16.

Con pocas excepciones, toxicología y patología datos fueron capturados, usando el sistema computarizado departamental validado E-Workbook (versión 9.4.0, ID Business Solutions Ltd).

11. DESVIACIONES DEL PLAN DE ESTUDIO

La siguiente desviación fue detectada durante el análisis:

Afecta:

Monitor de estudio p.6

Antes:

Ms Manuela Acosta

Ahora:

Ms Yesika Trujillo Muñoz

Razón:

Cambio de peticionario.

Esta desviación no influyó en la calidad o la integridad del presente estudio.

12. Resultados

La muestra de ensayo no presenta características agudas de toxicidad oral después de una dosis de administración.

12.1. Signos clínicos

Los resultados clínicos detallados del estudio se presentan en la tabla 2.

Tabla 2: Signos clínicos–Datos individuales

Etapa	Animal No./Sexo	Dosis inicial (mg/kg bw)	Observaciones
1	1 /Hembra	2000	NSF durante el período de observación
	2 /Hembra		
	3 /Hembra		
2	4 /Hembra		
	5 /Hembra		
	6 /Hembra		

bw= peso corporal; nsf=ninguna incidencia detectada

Basado en estos resultados y de acuerdo con el régimen del método clase tóxica aguda no fueron necesarias más pruebas.

Por lo tanto, según la OCDE directriz 423 [4], se proporciona una estimación de la toxicidad oral aguda del elemento de prueba suficiente.

12.2. Desarrollo del peso corporal

Ninguno de los animales presentaron una pérdida de peso durante los ensayo. (Para registros individuales ver Tabla 3).

Tabla 3: Peso corporales absolutos en g y aumento de peso en%

Etapa	Animal No./Sexo	Dosis inicial (mg/kg bw)	BW (g)			Peso corporal en comparativa con día 1 (%)
			Dia1	Dia8	Dia15	Dia15
1	1 /Hembra	2000	140	169	186	33
	2 /Hembra	2000	152	183	200	32
	3 /Hembra	2000	162	192	207	28
2	4 /Hembra	2000	159	170	184	16
	5 /Hembra	2000	145	171	181	25
	6 /Hembra	2000	155	178	190	23

bw=peso corporal

12.3. Patología

Los resultados patológicos detallados del estudio se presentan en la tabla 4. Se registraron sin cambios patológicos brutos específicos para cualquier animal.

Tabla4: Resultados de la necropsia - datos individuales

Step	Animal No./Sex	Dosis inicial (mg/kg bw)	Órgano	Resultados macroscópicos
1	1 /Hembra	2000	-	nsf
	2 /Hembra			
	3 /Hembra			
2	4 /Hembra			
	5 /Hembra			
	6 /Hembra			

bw= peso neto;

nsf=ninguna incidencia detectada

12.4. LD₅₀Cut-Off

Tabla5: LD₅₀ Cut-Off

Dosis inicial (mg/kg bw)	Número de animales	Número de muertes	LD ₅₀ Cut-Off no clasificados
2000	6	0	No clasificados

bw= bodyweight

13. Conclusión

Las condiciones del presente estudio, una sola aplicación oral para la muestra FIRE LIMIT FL-02 a ratas a dosis de 2000 mg/kg de peso corporal no se asoció a ningún signo de toxicidad o mortalidad.

La dosis letal mediana FIRE LIMIT FL-02 tras una dosis administrada a ratas hembras tras un periodo de 14 días es:

LD₅₀ cut-off(rat): no clasificada

Conforme a los criterios indicados en el anexo VI a la Comisión Directiva 2001/59/CE [9] el artículo de la prueba FIRE LIMIT FL-02 no tiene ningún requisito de etiquetado obligatorio para toxicidad.

De acuerdo al Anexo I del reglamento (EC)1272/2008 [10] la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no tiene requisitos obligatorios de etiquetado para toxicidad y no está clasificado.

De acuerdo a GHS (Globally Harmonized Classification System) [11] la muestra de ensayo FIRE LIMIT FL-02 no tiene requisitos obligatorios de etiquetado para toxicidad y no está clasificado.

Para más detalles del criterio de clasificación ver sección16.

14. Distribución del informe

1 original (electrónico):

BSL BIOSERVICE

1 copia (electrónico):

Para ser enviada al petitionerio

15. Referencias

15.1. Bibliografía

- [1] Chemikaliengesetz ("ChemicalsAct") of the Federal Republic of Germany, Appendix 1 to §19a amended and promulgated on August 28, 2013 (BGBl. I S. 3498)
- [2] Konsens-Dokument der Bund-Länder-Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis ("Consensus Document of the National and Länder Working Party on Good Laboratory Practice") on the archiving and storage of records and materials, 5 May 1998
- [3] OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997); OECD Environmental Health and Safety Publications; Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring-Number 1. Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris 1998
- [4] OECD, 2001: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method, OECD Guidelines for Testing of Chemicals 423, adopted 17 December 2001
- [5] Commission Regulation (EC) No 440/2008, L 142, Annex Part B, Method B.1 tris of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH)
- [6] EPA Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.1100 Acute Oral Toxicity, EPA 712-C-02-190, December 2002, United States, Environmental Protection Agency, Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7101)
- [7] Directive 2010/63/EU of the European Parliament of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes
- [8] German Animal Welfare Act, Art. 9.2, No. 7 (Deutsches Tierschutzgesetz, 24. Juli 1972 (BGBl. I S. 1277), Inkrafttreten der letzten Änderung: 13. Juli 2013, (Art. 2 Änd Gvom 04. Juli 2013)
- [8] German Animal Welfare Act, Art. 9.2, No. 7 (Deutsches Tierschutzgesetz, 24. Juli 1972 (BGBl. I S. 1277), Inkrafttreten der letzten Änderung: 13. Juli 2013, (Art. 2 Änd Gvom 04. Juli 2013)
- [9] Commission Directive 2001/59/EC adapting to technical progress for the 28th time Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances, 06 August 2001 (Official Journal of the European Communities no. L 225/1, 21 August 2001)
- [10] Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. Official Journal of the European Communities, L 353, 31 December 2008
- [11] GHS-Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals. Fifth revised edition, United Nations. New York/Geneva, 2013

15.2. Literatura

- [12] Schlede E, Mischke U, Diener W, Kayser D., The international validation study of the acute toxic class method (oral), Arch Toxicol, 1995; 69(10): 659-670

15.3. Interno BSL BIOSERVICE SOPs

Standard Operating Procedures (SOPs), No. 11-4-2 and 11-4-9

16. Apéndice: Criterio de clasificación

Sobre la base de los resultados de la prueba, la sustancia de ensayo puede clasificarse en una de las siguientes clases de conformidad con los criterios indicados en el anexo VI de la Directiva 2001/59/CE de la Comisión[9]:

•Muy tóxico

Las sustancias y preparados se clasificarán como muy tóxicos y se les asignará el símbolo "T +" y la indicación de peligro "muy tóxico" siguiendo los criterios especificados a continuación.

Las frases de riesgo se asignarán conforme a los criterios siguientes:

R28 Muy tóxico en caso de ingestión

- LD₅₀oral, rata ≤25 mg/kg
- inferior a 100%supervivencia a los 5 mg/kg oral, dosis fijada mediante el procedimiento,o
- alta mortalidad a dosis≤25 mg/kg oral, media el método de toxicidad oral aguda.

•Tóxico

Las sustancias y preparados se clasificarán como muy tóxicos y se les asignará el símbolo "T +" y la indicación de peligro "muy tóxico" siguiendo los criterios especificados a continuación.

Las frases de riesgo se asignarán conforme a los criterios siguientes:

R25 toxico en caso de ingestión

- LD₅₀oral, rat25 <LD₅₀≤200mg/kg
- Dosis rat 5 mg/kg:100%sobreviven pero con evidencia de toxicidad
- alta mortalidad en rango de dosis >25to≤200mg/kg de acuerdo a la clasificación del método de toxicidad aguda en ratas.

•Perjudicial

Las sustancias y preparados serán clasificados como perjudiciales y se les asignará el símbolo "Xn" y la indicación de peligro «nocivo» conforme a los criterios especificados a continuación.

Las frases de riesgo se asignarán conforme a los criterios siguientes:

R22 Nocivo en caso de ingestión

- LD₅₀ oral rat 200 < LD₅₀≤2000 mg/kg
- Dosis 50 mg/kg:100%sobreviven pero con evidencia de ser nocivo
- inferior a 100%supervivencia 500 mg/kg, mediante la dosis fijada
- rango de alta mortalidad >200to≤2000mg/kg oral, rat, mediante el método de toxicidad aguda

Sobre la base de los resultados de la prueba, la sustancia de ensayo puede clasificarse en una de las siguientes categorías en conformidad con los criterios indicados en Annex I del Reglamento (EC)1272/2008[10]:

Categoría	Criterio	Elementos de comunicación de peligro	
1	LD ₅₀ ≤ 5 mg/kg	Símbolo:	Calavera sobre dos trazas cruzadas
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro:	Mortal en caso de ingestión
2	5 mg/kg < LD ₅₀ ≤ 50 mg/kg	Símbolo:	Calavera sobre dos trazas cruzadas
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro:	Mortal en caso de ingestión
3	50 mg/kg < LD ₅₀ ≤ 300 mg/kg	Símbolo:	Calavera sobre dos trazas cruzadas
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro:	Mortal en caso de ingestión
4	300 mg/kg < LD ₅₀ ≤ 2000 mg/kg	Símbolo:	Signo de exclamación
		Palabra de advertencia	Advertencia
		Indicación de peligro:	Nocivo por ingestión

Sobre la base de los resultados de la prueba, la sustancia de ensayo puede clasificarse en una de las siguientes categorías en conformidad con los criterios indicados en GHS - Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, fifth revised edition, 2013[11]:

Categoría	Criterio	Elementos de comunicación de peligro	
1	LD ₅₀ ≤ 5 mg/kg	Símbolo	Calavera sobre trazas cruzadas
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro	Mortal en caso de ingestión
2	5 mg/kg < LD ₅₀ ≤ 50 mg/kg	Símbolo	Calavera sobre trazas cruzadas
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro	Mortal en caso de ingestión
3	50 mg/kg < LD ₅₀ ≤ 300 mg/kg	Símbolo	Calavera sobre trazas cruzadas
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro	Tóxico en caso de ingestión
4	300 mg/kg < LD ₅₀ ≤ 2000 mg/kg	Símbolo	Signo de exclamación
		Palabra de advertencia	Advertencia
		Indicación de peligro	Nocivo por ingestión
5	2000 mg/kg < LD ₅₀ ≤ 5000 mg/kg	Símbolo	No aplica símbolo
		Palabra de advertencia	Advertencia
		Indicación de peligro	Puede ser peligroso en caso de ingestión