



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Consulta Pública nº 31, de 24 de julho de 2008.

D.O.U de 25/07/2008.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso das atribuições que lhe confere o inciso IV do art. 11 e o art. 35 do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso V e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 22 de julho de 2008.

adota a seguinte Consulta Pública e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Fica aberto, a contar da data de publicação desta Consulta Pública, o prazo de 30 (trinta) dias para que sejam apresentadas críticas e sugestões relativas à proposta de Regulamento Técnico, para o ingrediente ativo Cihexatina, contido na Relação de Monografias dos Ingredientes Ativos de Agrotóxicos, Domissanitários e Preservantes de Madeira, em anexo.

Art. 2º Informar que a proposta Regulamento Técnico, bem como a Nota Técnica do Ingrediente Ativo Cihexatina estará disponível, na íntegra, durante o período de consulta no endereço eletrônico www.anvisa.gov.br e que as sugestões deverão ser encaminhadas por escrito para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, SEPN 511, Bloco "A" Ed. Bittar II, Asa Norte, Brasília, DF, CEP 70.750.541 ou Fax: (061)3448-6287 ou E-mail: toxicologia@anvisa.gov.br.

Art. 3º Findo o prazo estipulado no art. 1º a Agência Nacional de Vigilância Sanitária articular-se-á com os Órgãos e Entidades envolvidos na reavaliação toxicológica de acordo com a RDC 48, de 07 de julho de 2008, visando à consolidação do texto final.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

ANEXO

RESOLUÇÃO RDC N.º , DE DE JULHO DE 2008

Regulamento técnico para o ingrediente ativo
Cihexatina em decorrência da reavaliação
toxicológica

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o inciso IV do art. 11 do Regulamento aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso II e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em.....de de 2008, e

considerando o disposto na Constituição Federal, de 05 de outubro de 1988, em seu artigo 5º, XXXIII e LX, relativos ao direito à informação e publicidade dos atos da administração pública;

considerando o disposto na Constituição Federal, de 05 de outubro de 1988, em seu artigo 200, incisos I, II e VII;

considerando o disposto na Lei nº. 8.080, de 19 de setembro de 1990, em seu art. 6º, incisos I e alíneas, VII, IX e § 1º e incisos;

considerando o disposto na Lei nº. 9.782, de 26 de janeiro de 1999, em seu artigo 8º e parágrafos, que determina a regulamentação, o controle e a fiscalização dos produtos que envolvam risco à saúde pública;

considerando o disposto na Lei nº 9.784, de 29 de janeiro de 1999; que regula o processo administrativo no âmbito da Administração Pública Federal;

considerando a Lei nº 10.603, de 17 de dezembro de 2002, que dispõe sobre a informação não divulgada submetida para aprovação da comercialização de produtos;

considerando o disposto na Lei nº. 7.802, de 11 de julho de 1989, art. 3º, § 6º, alíneas c e d, combinado com disposto no Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002, artigos 2º, inciso VI; art. 6º, inciso I; art. 19, parágrafo e incisos e art. 31, incisos e parágrafos;

considerando o disposto na Instrução Normativa Conjunta nº. 02, de 27 de setembro de 2006, que estabelece procedimentos para fins de reavaliação agrônômica ou toxicológica ou ambiental dos agrotóxicos, seus componentes e afins;

considerando a RDC nº10, de 22 de fevereiro de 2008, estabelecendo a reavaliação toxicológica de produtos técnicos e formulados à base do ingrediente ativo Cihexatina;

considerando a RDC 48, de 07 de julho de 2008, estabelecendo os procedimentos administrativos para a reavaliação toxicológica;

considerando o impacto dos agrotóxicos de forma difusa e coletiva e a importância da ampla participação da sociedade através do instrumento de consulta pública;

considerando que o ingrediente ativo Cihexatina apresenta toxicidade aguda extremamente elevada e opacidade de córnea irreversível;

considerando que o ingrediente ativo Cihexatina apresenta acentuada toxicidade reprodutiva e toxicidade para o desenvolvimento em duas espécies de animais testados, por diferentes vias de administração, causando embriofetalidade e abortamentos, em pequenas doses;

considerando que a Cihexatina apresenta evidências de teratogenicidade com incidência de hidrocefalia e outras malformações cerebrais e ósseas em vários estudos com animais experimentais;

considerando que a Cihexatina no cenário internacional, tem sido banida ou alvo de severas restrições devido aos riscos para a saúde humana;

adota a seguinte Resolução e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Cancelar os informes de avaliação toxicológica dos produtos técnicos e formulados à base do ingrediente ativo Cihexatina.

Art. 2º Cancelar a monografia do ingrediente ativo Cihexatina bem como os limites máximos de resíduos para todas as culturas.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data da sua publicação.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

NOTA TÉCNICA **REAVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO INGREDIENTE ATIVO CIHEXATINA**

1. Introdução

O grupo dos compostos organoestanhosos inclui uma variedade de químicos usados na agricultura e na indústria em geral. O primeiro registro de comercialização de compostos organoestanhosos data de 1936, quando foram usados como estabilizadores de polímeros sintéticos (Fent, 1996). A partir da descoberta da propriedade biocida dos organoestanhosos em 1950, observou-se um aumento considerável da aplicação, consumo e produção destes compostos, que cresceu de 5.000 t no ano de 1955 para cerca de 35.000 t no ano de 1985, o que representava na época aproximadamente 7% do consumo mundial total de estanho por ano.

Os compostos diorganoestanhosos e monoorganoestanhosos são usados, principalmente, como estabilizadores de policloreto de vinila (PVC) e catalisadores na produção de poliuretanos, silicone e em

outros processos industriais. Os compostos triorganoestanhos são utilizados como pesticidas de uso agrícola, como agentes preservativos da madeira, algodão, papel, na indústria de vidros, e como aditivos de tintas para uso náutico. Já os compostos tetraorganoestanhos são basicamente usados como estabilizadores de óleos e intermediários na produção dos seus derivados (Fait *et al.*, 1994). Dentre os diferentes grupos de compostos a base de estanho, são os compostos triorganoestanhos, entre eles o hidróxido de triciclohexilestanho (cihexatina), os mais estudados sob o ponto de vista toxicológico (Guard *et al.*, 1981). A presente reavaliação toxicológica do ingrediente ativo cihexatina se situa neste contexto.

2. Caracterização Química

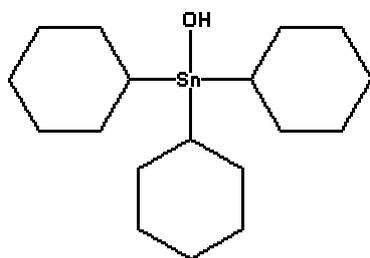
Nome comum: Cihexatina

Nome químico: Hidróxido de triciclohexilestanho

Número de registro no CAS (*Chemical Abstracts Service*): 13121-70-5

Fórmula empírica: C₁₈H₃₄SnO

Estrutura química:



Peso molecular: 384,9 g/mol

Pressão de vapor: <0,01 mPa ou <7,5.10⁻⁸ mmHg à 25°C

Grupo Químico: Organoestânico

Classe Agronômica: Acaricida

3. Avaliação Toxicológica

3.1 Toxicocinética

As características toxicocinéticas da cihexatina, nas formas micronizada e não-micronizada, foram avaliadas em 17 estudos independentes utilizando camundongos, ratos e coelhos. Os dados aqui apresentados foram retirados dos relatórios do IPCS (*International Programme on Chemical Safety*) divulgados nos anos de 1991 e 2005, bem como de estudos aportados na ANVISA. Os estudos estão sumarizados a seguir:

Estudo 1

Espécie: Camundongos ICR

Número de animais/dose: Não especificado/1 mg/kg

Via: Transdérmica

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não especificada

Qualidade do estudo: Não foi especificado se o estudo seguiu as normas BPL ou outra *guideline*

Resumo do estudo:

A aplicação de cihexatina radiomarcada (¹⁴C) foi realizada em áreas de 1.2 cm² de pele sem pêlos. A penetração dérmica média observada foi de 0.7% após 1 h, 1.4% após 6 h e 5.5% após 24 h. O percentual de radioatividade absorvida encontrada em diferentes tecidos está apresentado na tabela 1 (Grissom *et al.*, 1985).

Tabela 1: Percentual de cihexatina radiomarcada (¹⁴C) absorvida por via transdérmica em camundongos

	Tempo pós-administração (h)		
	1	6	24
Fígado	5.4	5.8	3.0
Rins	1.8	1.6	1.1
Tecido adiposo	0.2	0.2	0.07
Sangue	1.9	1.1	0.3
Carcaça	33	35	26
Excreta	55	56	69

Estudo 2

Espécie: Ratos *Sprague-Dawley*

Número de animais/dose: 12 fêmeas/3 mg/kg

Via: Oral (gavagem)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam uma dose única de cihexatina micronizada em solução de carboximetilcelulose por gavagem. Amostras de sangue foram coletadas 0.5, 1, 3, 4, 8 e 24 h após a administração e após 24 h nos controles. O pico de concentração plasmática de estanho (C_{max}) foi de 18.8 µg/l, observado após 3 h da administração, caindo até os níveis encontrados nos controles em 24 h (Barrow, 1991a).

Estudo 3

Espécie: Ratos *Sprague-Dawley*

Número de animais/dose: 40 fêmeas/3 mg/kg

Via: Oral (gavagem)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam uma dose única de uma suspensão de cihexatina técnica não-micronizada em 5% de carboximetilcelulose e amostras de sangue foram coletadas 0.5, 1, 3, 4, 6, 8, 12 e 24 h após a administração. Adicionalmente, 5 fêmeas receberam apenas o excipiente (grupo controle) e tiveram amostras de sangue coletadas 24 h após a administração. Não foram observados mortalidade e sinais clínicos. O C_{max} de estanho encontrado foi de 8.89 µg/l observado 3 h após a administração. (Barrow, 1991c).

Estudo 4

Espécie: Ratos *Sprague-Dawley*

Número de animais/dose: 40 fêmeas/3 mg/kg

Via: Oral (gavagem)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam uma dose única de cihexatina micronizada em 5% de carboximetilcelulose e amostras de sangue foram coletadas 0.5, 1, 3, 4, 6, 8, 12 e 24 h após a administração. Adicionalmente, 5 fêmeas receberam apenas o excipiente (grupo controle) e tiveram amostras de sangue coletadas 24 h após a administração. Não foram observados mortalidade e sinais clínicos. O C_{max} de estanho encontrado foi de 13.8 µg/l observado 4 h após a administração (Barrow, 1991g).

Estudo 5

Espécie: Ratos *Sprague-Dawley*

Número de animais/dose: 55 fêmeas/0,5 mg/kg

Via: Intravenosa

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam uma dose única de solução de cihexatina micronizada em etanol e amostras de sangue foram coletadas imediatamente antes da administração (pré-teste) e após 10, 15, 20, 30, 60, 120, 240, 360, 480 min e 24 h após a administração. A concentração plasmática média de estanho pré-teste

encontrada foi de 0.003 µg/ml. Após a administração as concentrações plasmáticas de 0.6, 0.1, 0.2, 0.1, 0.08, 0.05, 0.038, 0.03, 0.02 e 0.01 µg/ml foram observadas nos tempos de coleta descritos anteriormente (Woehrle, 1991b).

Estudo 6

Espécie: Ratos *Sprague-Dawley*

Número de animais/dose: 2-4 por grupo/3 ou 30 mg/kg

Via: Oral (gavagem ou cânula estomacal)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Animais de ambos os sexos receberam doses de cihexatina radiomarcada (^{14}C) em solução aquosa de metilcelulose 1%. Os níveis de radioatividade na bile, urina, fezes e na carcaça dos animais foi analisada 96 h após a administração. Os resultados estão descritos na tabela 2 (Caldwell, 2001).

Tabela 2: Percentual de cihexatina radiomarcada (^{14}C) absorvida por via oral em ratos

	Dose (mg/kg)			
	3		30	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Bile	5.01	9.49	3.38	6.30
Urina	1.64	3.72	0.76	1.70
Fezes	91.75	74.12	81.92	82.63
Carcaça	0.88	2.34	0.26	0.99

Estudo 7

Espécie: Ratos *Wistar*

Número de animais/dose: 6 por grupo/dose única de 3 ou 30 mg/kg ou 10 doses repetidas de 1.5 mg/kg de cihexatina não-radiomarcada seguida de uma dose semelhante do composto radioativo

Via: Oral (gavagem)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 95.85%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Animais de ambos os sexos receberam cihexatina em solução aquosa de metilcelulose 1% nos 3 diferentes regimes de dosagem. As concentrações de cihexatina no plasma, bem como na urina e nas fezes foram avaliadas. A absorção oral média de cihexatina foi de 10% da dose administrada. Cerca de 5.2-6.6 e 61.3-97.4% da dose administrada foi encontrada na urina e nas fezes respectivamente. Os resultados da toxicocinética da cihexatina em plasma estão descritos na tabela 3:

Tabela 3: Parâmetros cinéticos de cihexatina radiomarcada (^{14}C) administrada por via oral a ratos

Parâmetro	Dose (mg/kg)					
	3		30		1.5 x 10	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
C_{\max} (µg/g)	0.047	0.059	0.343	0.288	0.030	0.071
T_{\max} (h)	8	12	4	72	12	12
$T_{1/2}$ (h)	22.28	38.03	21.67	78.01	13.99	23.06
ASC_{0-t} (µg.h/g)	1.41	1.95	21.99	23.23	0.84	2.40
$ASC_{0-\infty}$ (µg.h/g)	1.66	2.61	26.03	49.36	0.87	2.74
K (h^{-1})	0.03	0.02	0.03	0.01	0.05	0.03

Os metabólitos presentes nas amostras de urina e fezes dos animais utilizados na fase cinética do estudo foram analisados por cromatografia de camada delgada, HPLC e LC-MS. Sete metabólitos polares foram separados da urina, mas não foram identificados. Não foram encontrados cihexatina, óxido de dicitlohexilestanho (DCTO), ácido monociclohexilestanico (MCTA) e ciclohexanol na urina. A radioatividade encontrada nas fezes foi identificada predominantemente como cihexatina (62%) com pequenas contribuições de DCTO (3%) e ciclohexanol (8%). A presença de metabólitos nas fezes provavelmente foi decorrente da quebra da cihexatina por bactérias da microbiota intestinal (Frieling, 2003).

Estudo 8

Espécie: Ratos (linhagem não especificada)

Número de animais/dose: 5 fêmeas por grupo/3 mg/kg forma micronizada ou 3 mg/kg forma não-micronizada ou 0.5 mg/kg forma micronizada

Via: Oral (3 mg/kg) ou intravenosa (0.5 mg/kg)
 Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não especificada
 Qualidade do estudo: Não foi especificado se o estudos seguiu as normas BPL ou outra *guideline*
 Resumo do estudo:

Grupos de 5 animais receberam 3 mg/kg de cihexatina nas formas micronizada ou não-micronizada por via oral ou 0.5 mg/kg da forma micronizada por via intravenosa. As concentrações plasmáticas de estanho foram analisadas em vários momentos até 24 h após a administração. Os resultados estão descritos na tabela 4 (Salmona & Gagliardi 1991a).

Tabela 4: Parâmetros cinéticos de estanho em ratos expostos a cihexatina

Parâmetro	Oral não-micronizada	Oral micronizada	Intravenosa micronizada
ASC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/l}$)	20	46	635
Biodisponibilidade (%)	0.53	1.2	--
Dose média absorvida (mg/kg)	0.016	0.036	0.5
$T_{1/2}$ (h)	1.16	1.55	3.35
Clearance (l/min.kg)	--	--	0.00403
Vd (l/kg)	--	--	1.174
C_{max} ($\mu\text{g/l}$)	4.56	8.1	2020
T_{max} (h)	2	2.5	--
R^2 (%)	94	79	89

Estudo 9

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 18 grávidas por grupo/3 mg/kg por dia

Via: Oral (gavagem)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais foram divididos em 3 grupos iguais de 6 fêmeas grávidas cada. Dois grupos receberam doses de 3 mg/kg de cihexatina por dia por via oral entre os dias 6-18 de gestação, sendo que um dos grupos foi sacrificados após 7 dias de recuperação (ausência de cihexatina), e o terceiro grupo foi utilizado como controle. As concentrações de estanho foram analisadas no sangue, nos rins e no fígado das mães e nos fetos, placenta e líquido amniótico. O C_{max} de estanho plasmático nas mães foi observado cerca de 3 h após administração e sua meia-vida foi calculada em 8.17 ± 1.59 h. Os níveis teciduais apresentaram-se aumentados nos fígados e rins, mas não no cérebro de ratas tratadas no dia 19. Após o período de recuperação, os níveis de estanho no sangue e nos órgãos maternos foram comparáveis entre os grupos tratado e controle. Os níveis de estanho foram significativamente maiores no líquido amniótico, placenta e nos órgãos fetais (fígado, rins e cérebro), quando comparados ao grupo controle no dia 19. Após o período de recuperação os níveis cerebrais de estanho nos fetos continuavam aumentados, enquanto os outros órgãos apresentavam níveis comparáveis aos dos controles. Uma das fêmeas grávidas tratadas apresentou taquipnéia imediatamente após a administração de cihexatina no dia 18 de gestação, porém este efeito não foi observado posteriormente. No dia 19 de gestação o peso médio dos fetos e das placentas foram comparáveis entre o grupo tratado e o grupo controle, entretanto após o período de recuperação o peso médio dos fetos apresentou-se reduzido, bem como o peso de seus rins (Woehrle, 1991, Salmona & Gagliardi 1991b).

Estudo 10

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 8 fêmeas por grupo/3 mg/kg

Via: Oral (gavagem) ou transdérmica

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam doses de 3 mg/kg de cihexatina micronizada em carboximetilcelulose 5% por via oral e dérmica. Amostras de sangue foram coletadas 0.5, 1, 3, 4, 8 e 24 h após a administração e a concentração de estanho foi determinada. O C_{max} observado por via oral foi de $119 \mu\text{g/l}$, enquanto que por via transdérmica foi observado um valor de $20 \mu\text{g/l}$, ambos ocorrendo cerca de 3 h após a administração (Barrow, 1991a).

Estudo 11

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 20 fêmeas/3 mg/kg

Via: Oral (gavagem)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam doses de 3 mg/kg de cihexatina não-micronizada em carboximetilcelulose 5% por via oral e amostras de sangue, fezes e urina foram coletadas para determinação das concentrações de estanho. O C_{max} de estanho observado foi de 14.0 µg/l encontrado 4 h após a administração. Os níveis encontrados nas fezes foram de 6.2-37.8 µg/g após 24 h da administração, diminuindo para 1.8-8.4 µg/g após 48 h. Os níveis urinários observados variaram de 38.9-112.7 µg/l após 24 h e 58.9-108.4 µg/l após 48 h da administração (Barrow, 1991b).

Estudo 12

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 20 fêmeas/3 mg/kg

Via: Oral (gavagem)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

O protocolo experimental foi idêntico ao utilizado no estudo 11, porém foi utilizada a forma micronizada da cihexatina. O C_{max} de estanho observado foi de 18.7 µg/l encontrado 4 h após a administração. Foram encontradas concentrações nas fezes variando 15.2 a 25.3 µg/g após 24 da administração, decaindo para concentrações de 3.4 a 11.8 µg/g após 48 h. As concentrações urinárias encontradas foram de 62.7-98.9 µg/l em 24 h e 100.2-140.9 µg/l após 48h da administração (Barrow, 1991c).

Estudo 13

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 20 fêmeas/3 mg/kg

Via: Transdérmica

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam doses de 3 mg/kg de cihexatina não-micronizada em carboximetilcelulose 5% por via transdérmica (130 cm² no dorso) e amostras de sangue, fezes e urina foram coletadas para determinação das concentrações de estanho. A concentração plasmática média de estanho pré-tratamento observada foi de 6.5 µg/l, e em 0.5, 1, 4, 8, 24, 32, 48 e 54 h após a administração foram observadas as concentrações de 8.0, 7.0, 8.3, 10.9, 8.6, 7.9, 8.6 e 6.7 µg/l. Os níveis médios de estanho encontrados nas fezes foram 1.5, 2.9 e 2.0 µg/g em 24, 48 e 54 h após a administração, e os níveis urinários médios observados foram 65.8, 82.5 e 43.5 µg/l em 24, 48 e 54 h após a administração (Barrow, 1991e).

Estudo 14

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 20 fêmeas/3 mg/kg

Via: Transdérmica

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

O protocolo experimental foi idêntico ao utilizado no estudo 13, porém foi utilizada a forma micronizada da cihexatina. A concentração plasmática média de estanho pré-tratamento observada foi de 5.9 µg/l, e em 0.5, 1, 4, 8, 24, 32, 48 e 54 h após a administração foram observadas as concentrações de 7.5, 7.1, 7.9, 11.1, 9.2, 7.5, 6.1 e 6.6 µg/l. Os níveis médios de estanho encontrados nas fezes foram 5.9, 1.9 e 1.6 µg/g em 24, 48 e 54 h após a administração, e os níveis urinários médios observados foram 81.3, 61.8 e 89 µg/l em 24, 48 e 54 h após a administração (Barrow, 1991f).

Estudo 15

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 15 fêmeas/3 mg/kg, 2 fêmeas por grupo/0.5 e 1 mg/kg

Via: Intravenosa

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam 3 diferentes doses de cihexatina micronizada em etanol absoluto por via intravenosa e amostras de sangue foram coletadas para determinação das concentrações de estanho. Foram encontradas as concentrações plasmáticas médias de estanho de 0.95, 0.77, 0.68, 0.45, 0.45 e 0.39 mg/l após 10, 15, 20, 30, 60 e 120 min após a administração respectivamente. Após 240 minutos, todos os animais que receberam 3 mg/kg haviam morrido. Nos animais do grupo que recebeu a dose de 1 mg/kg, a concentração plasmática média de estanho foi 0.503 mg/l após 20 minutos, e, após 24 h, todos os animais haviam morrido. Nenhum dado referente ao grupo de menor dose foi disponibilizado (Woehrle, 1991a).

Estudo 16

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 20 fêmeas/0.5 mg/kg

Via: Intravenosa

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais receberam doses de cihexatina micronizada em etanol absoluto por via intravenosa e amostras de sangue foram coletadas para determinação das concentrações de estanho. A concentração plasmática de estanho aumentaram de 0.02 µg/l (concentração pré-administração) para 0.28 µg/l após 5 minutos da administração. Após uma hora, os níveis decaíram para 0.08 µg/l e após 3 h para 0.07 µg/l. Na urina, as concentrações médias observadas em 3 coelhos foram de 52.7 µg/l após 24 h e 67.0 µg/l após 48 h da administração, enquanto a concentração média pré-administração foi 31 µg/l. Os níveis fecais medidos em 5 coelhos indicaram uma concentração média de estanho de 12.56 µg/g após 24 h e 14.3 µg/g após 48 h da administração, enquanto o nível médio pré-administração foi 5.9 µg/g (Woehrle, 1991a).

Estudo 17

Espécie: Coelhos

Número de animais/dose: 20 fêmeas por via/ 3 mg/kg (oral, transdérmica e intravenosa) ou 0.5 mg/kg (intravenosa)

Via: Oral (gavagem), transdérmica e intravenosa

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não especificada

Qualidade do estudo: Não foi especificado se o estudo seguiu as normas BPL ou outra *guideline*

Resumo do estudo:

Grupos de 20 animais receberam cihexatina micronizada ou não-micronizada por via oral, transdérmica ou intravenosa, sendo que por esta via foram utilizadas duas diferentes doses. Amostras de sangue foram coletadas para a determinação das concentrações plasmáticas de estanho. Os animais que receberam a dose de 3 mg/kg por via intravenosa morreram após 4 h da administração, portanto este grupo foi excluído das análises. Os dados estão apresentados na tabela 5 (Salmona e Gagliardi 1991).

Tabela 5: Parâmetros cinéticos do estanho em coelhos expostos a cihexatina

Parâmetro	Oral		Transdérmica		Intravenosa
	Não-micronizada	Micronizada	Não-micronizada	Micronizada	Micronizada
ASC estimada	157	102	159	135	279
ASC medida	154	129	128	115	--
Biodisponibilidade (%)	9.2	7.7	7.7	6.9	--
Dose média absorvida (mg/kg)	0.279	0.231	0.231	0.207	0.5
T _{1/2} (h)	9.12	2.32	21.7	14.1	2.31
Clearance (l/min.kg)	--	--	--	--	0.0092
V _d (l/kg)	--	--	--	--	1.837
C _{max} (µg/l)	8.1	11.5	3.37	4.3	316.4
T _{max} (h)	5.5	3.5	11.7	9.1	--
R ² (%)	89	77	69	76	97

ASC: Área sob a curva de concentração plasmática por tempo, T_{1/2}: tempo de meia-vida, V_d: Volume de distribuição aparente

Os estudos toxicocinéticos da cihexatina revelam que esta molécula possui uma biodisponibilidade limitada, este fato é observado em ratos e coelhos, sendo que a primeira espécie apresenta valores menores (Tabela 4) que a última (Tabela 5). Deve-se notar também que a forma de cihexatina administrada

é determinante no processo de absorção, principalmente em ratos, onde a administração da forma micronizada leva a um aumento de cerca de 2 vezes na ASC da cihexatina quando comparada com a forma não-micronizada, 46 e 20 µg.h/l respectivamente e nos valores de C_{max} , 8.1 e 4.56 µg/l respectivamente. Interessantemente em coelhos a ASC, tanto estimada quanto medida experimentalmente, foi menor nos animais que receberam a forma micronizada em comparação com o grupo que recebeu a forma não-micronizada, entretanto os valores de C_{max} apresentaram-se aumentados no grupo que recebeu a forma micronizada, tanto por via oral quanto por via transdérmica. A análise cinética em coelhas grávidas revelou que são encontrados níveis expressivos de estanho na placenta, líquido amniótico e fetos de mães tratadas, e que no cérebro desses fetos mesmo após um período de 7 dias de recuperação os níveis de estanho não retornaram para os padrões observados nos animais controle. Coletivamente os dados mostram que a cihexatina é capaz de ser absorvida por importantes vias de exposição toxicológica, como a via oral e a via transdérmica e que uma vez absorvida pode ocorrer a distribuição para órgãos como o fígado e os rins, e no caso de animais em gestação para os tecidos fetais.

3.2. Toxicidade aguda

As toxicidade aguda da cihexatina foi avaliada em 13 estudos constantes dos relatório IPCS do ano de 2005 e 1 estudo múltiplo aportado na ANVISA. Os estudos foram realizados com ratos, coelhos e cobaias e foram utilizadas as formas micronizada e não-micronizada. A exposição foi realizada por via oral, inalatória, transdérmica e ocular. Os dados de doses e concentrações letais estão apresentados na tabela 6. Os testes de irritação ocular e sensibilização dérmica estão sumarizados no item 3.2.2.

3.2.1. Doses letais

Tabela 6: Estudo de toxicidade aguda da cihexatina

Espécie	Linhagem	Via	Pureza (%) e forma	DL ₅₀ (mg/kg) ou CL ₅₀ (mg/l)	Referência
Coelho	New Zealand	Dérmica	95,5, forma não especificada	>2000	Jeffrey <i>et al</i> , 1986 <i>apud</i> JMPR 2005
Rato	Wistar	Dérmica	93,5, forma não especificada	Machos, 7600 Fêmeas, 3600	Dickhaus & Heisler 1982 <i>apud</i> JMPR 2005
Ratos	Sprague-Dawley	Dérmica	95, forma não especificada	>2000	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Sprague-Dawley	Inalatória (4h exposição nasal apenas)	ND, diâmetro médio da partícula = 4,0-5,2 µm	Ambos os sexos, 0,02	McDonald 1989 <i>apud</i> JMPR 2005
Rato	Sprague-Dawley	Inalatória (4h exposição nasal apenas)	ND, 75-93% das partículas com diâmetro < 6 µm	Ambos os sexos, 0,016	Cracknell 1993 <i>apud</i> JMPR 2005
Rato	Fischer F344	Inalatória (4h exposição nasal apenas)	96,7, diâmetro médio da partícula = 3,8-6,4 µm	Machos, 0,02 Fêmeas, 0,04	Nistchke <i>et al</i> 1987 <i>apud</i> JMPR 2005
Ratos	Sprague-Dawley	Inalatória (4h exposição)	95, diâmetro médio da partículas ≤15 µm	<0,0095	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Sprague-Dawley	Oral	96, não micronizada	Machos, 599 Fêmeas, 654	Denton 1983a <i>apud</i> JMPR 2005
Rato	Sprague-Dawley	Oral	95, não micronizada	Machos, 425 Fêmeas, 274	Longobardi 1994a <i>apud</i> JMPR 2005
Rato	Sprague-Dawley	Oral	96, micronizada	Machos, 501 Fêmeas, 265	Denton 1983b <i>apud</i> JMPR 2005
Rato	Sprague-Dawley	Oral	95, micronizada	Machos, 407 Fêmeas, 411	Longobardi 1994b <i>apud</i> JMPR 2005
Ratos	Sprague-Dawley	Oral	95, forma não especificada	500	Dossiê de registro submetido à ANVISA

Os dados de DL₅₀ dérmica para a cihexatina foram obtidos entre 3 estudos, em dois deles, um em coelhos e um em ratos, não foi possível se determinar o valor de DL₅₀, sendo que até a dose de 2000 mg/kg não foi observada letalidade o enquadrando em Classe IV – pouco tóxico (Brasil, 1992). Esses dados são

compatíveis com os valores obtidos utilizando-se ratos, em que os valores de DL₅₀ foram de 7600 e 3600 mg/kg em machos e fêmeas respectivamente. Os valores de DL₅₀ oral foram todos obtidos utilizando-se ratos e de uma maneira geral apresentaram diferenças entre os sexos e as formas de cihexatina administradas. Segundo a legislação brasileira (Brasil, 1992), utilizando o valor mais restritivo enquadraria esse parâmetro na classe III (medianamente tóxico). Os estudos por via inalatória apresentaram CL₅₀ variando entre 0.016 e 0.04 mg/l, e o estudo aportado na ANVISA de 2004, em laboratório com BPL, mesmo na menor dose utilizada (0.0095 mg/l) houve alta mortalidade e portanto não foi possível se determinar a CL₅₀. Portanto, para o parâmetro CL₅₀, o produto é enquadrado como Classe I – Extremamente Tóxico.

De acordo com a legislação brasileira (Brasil, 1992), a classificação final de toxicidade aguda do produto é dada pelo parâmetro mais restritivo, que no caso, foram a CL₅₀ e a irritação ocular (Classe I-Extremamente Tóxico, opacidade irreversível da córnea em até 7 dias, como é descrito no próximo item), levando o produto a ser classificado como “**Classe I – Extremamente Tóxico**”.

3.2.2 Irritação dérmica, ocular e sensibilização dérmica

Estudo 1

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/concentração: não especificado/ 1, 10 e 100%

Via: Transdérmica

Concentração do ingrediente ativo (pureza): não especificada

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL

Resumo do estudo:

Os animais foram expostos por via transdérmica à 3 doses de cihexatina (forma não especificada) em locais de aplicação íntegros e não-íntegros. As reações nos locais de aplicação foram verificadas após 72 h e 7 dias da aplicação. Todas as concentrações de cihexatina utilizadas causaram reações dérmicas, incluindo eritema e edema na pele íntegra e não-íntegra no momento inicial da aplicação, e permaneceram visíveis após 72 h da administração (Dickhaus & Heisler 1981a).

Estudo 2

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/dose: 3/0.1g

Via: Ocular

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 97.3%

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL

Resumo do estudo:

Foram instilados 0.1g de cihexatina em ambos os olhos de 3 animais, sendo que em um deles de cada coelho foi realizada uma lavagem 30 s após a aplicação. Os efeitos foram observados 24 e 48 h e 7 e 14 dias após a instilação. Nos 7 primeiros dias foram observados quadros de inflamação conjuntival severa, dano moderado nas córneas, e irite leve nos dois olhos de cada animal. Após 14 dias, não foi observado nenhuma alteração nas córneas e na íris, porém uma leve inflamação conjuntival ainda podia ser verificada nos olhos dos animais (Rampy & Keller 1973).

Estudo 3

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais/concentração: 6 por dose/1, 10 e 100%

Via: Ocular

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não especificada

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL, porém estava de acordo com a *guideline* 405 da OECD

Resumo do estudo:

Os animais receberam instilações de cihexatina (forma não especificada) nos olhos direitos, enquanto os olhos esquerdos foram mantidos como controles. Os efeitos do tratamento foram avaliados por 7 dias. Os animais que receberam instilações de cihexatina a 100% apresentaram irritação conjuntival com vermelhidão, quemose e secreção, a partir do primeiro dia de tratamento. Opacidade irreversível foi observada no segundo dia nos animais tratados com a maior dose e esses animais foram sacrificados. A instilação de cihexatina a 10% causou irritação conjuntival (vermelhidão moderada, quemose, olhos semi-fechados e lacrimejamento) no dia 1, porém, estas alterações desapareceram após 4 dias da aplicação. A menor dose causou vermelhidão conjuntival leve do dia 2 até o dia 4 (Dickhaus & Heisler 1981b).

Estudo 4

Espécie: Cobaías *Dunkin-Hartley*

Número de animais/concentração: 6 por sexo por grupo/1%, seguido de desafio com cihexatina

0.5%

Via: Transdérmica

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não especificada

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL ou outra *guideline*

Resumo do estudo:

Grupos de 6 fêmeas e 6 machos receberam 3 aplicações tópicas de 1 ml de cihexatina 1% em polietilenoglicol, durante 3 semanas (1 aplicação/semana), enquanto um grupo idêntico de animais recebeu apenas aplicações do veículo. Duas semanas após a última aplicação os animais tratados e controle foram desafiados com uma aplicação tópica de 1 ml de cihexatina a 0.5%. Os locais de aplicação foram examinados 14 e 48 h após o desafio. Um leve eritema localizado foi observado nos dois grupos (tratados e controle), sem diferenças entre eles (Jones, 1984).

Os estudos de irritação dérmica, ocular e sensibilização dérmica realizados com a cihexatina mostraram um elevado potencial tóxico quando o produto é administrado por via ocular, com desenvolvimento de quadros de **opacidade irreversível**. Este efeito determina a inclusão da cihexatina na classe I de toxicidade, ou seja, produto **Extremamente Tóxico** (Brasil, 1992).

No estudo por via transdérmica foram observados efeitos relacionados a irritação dérmica como eritema e edema nos locais de aplicação sendo perceptíveis em até 72 h após a aplicação. No dossiê de registro submetido à ANVISA os mesmos efeitos foram observados, porém **não houve reversão mesmo após 14 dias da aplicação**. No estudo de sensibilização dérmica aqui relatado foi observado o aparecimento de uma reação eritematosa, classificada na escala de Magnusson e Kligman como de graus I e II. Este mesmo efeito foi observado no dossiê aportado na ANVISA em estudo semelhante.

Dessa forma, conforme já descrito no item 3.2.1, a classificação toxicológica aguda final da cihexatina é **Classe I – Extremamente Tóxica** (Brasil, 1992).

3.3. Estudos com doses repetidas

A cihexatina foi avaliada em 6 estudos subcrônicos constantes dos relatório IPCS do ano de 2005. Os estudos foram realizados com camundongos, ratos e coelhos. A exposição foi realizada por via oral (dieta), inalatória e transdérmica. Os estudos estão sumarizados a seguir.

Estudo 1

Espécie: Camundongos B6C3F₁

Número de animais: 10 por sexo

Doses: 0, 6 ou 10 mg/kg/dia

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 90 dias

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 98%

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL, porém estava de acordo com a *guideline* 408 da OECD

NOAEL: 10 mg/kg/dia

Resumo do estudo:

Os animais foram alimentados com dietas contendo cihexatina, ajustada para fornecer as doses de 6 ou 10 mg/kg/dia, adicionalmente um grupo controle foi mantido com dieta normal. Não foram observados efeitos relacionados ao tratamento com relação à mortalidade, sinais clínicos, alterações do peso corporal e consumo de alimentos. Foram observadas algumas modificações hematológicas e em parâmetros laboratoriais esporádicas, que não foram relacionadas ao tratamento. Não houve alterações patológicas macroscópicas, histopatológicas ou no peso de órgãos (McCollister, 1980).

Estudo 2

Espécie: Ratos *Sprague-Dawley*

Número de animais: 5 por sexo/grupo

Doses: 0, 1, 3 ou 6 mg/kg/dia

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 28 dias

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 98.3%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL e com a *guideline* 407 da OECD

NOAEL: 3 mg/kg/dia

Resumo do estudo:

Os animais foram alimentados com dietas contendo cihexatina, ajustada para fornecer as doses de 1, 3 ou 6 mg/kg/dia, adicionalmente um grupo controle foi mantido com dieta normal. Não foram observados efeitos sobre a mortalidade, o ganho de peso corporal ou consumo de alimentos. Algumas modificações hematológicas estatisticamente significativas foram registradas, mas encontravam-se na faixa de variação do controle histórico. O tempo de protrombina estava significativamente aumentado em machos na dose de 6 mg/kg por dia, entretanto, em fêmeas o mesmo parâmetro apresentou-se significativamente reduzido nas doses de 3 e 6 mg/kg por dia. Houve uma pequena, porém estatisticamente significativa redução na concentração média de hemoglobina corpuscular, e um aumento, também significativo, no tempo de protrombina ativada em machos que receberam a maior dose. Houve uma leve tendência de aumento dose-relacionada na contagem e no volume de eritrócitos e hemoglobina. Essas medidas foram maiores em machos tratados com a maior dose (6 mg/kg por dia). Não houve alterações nos parâmetros clínico-laboratoriais e patológicos macroscópicos, bem como no peso de órgãos. O NOAEL (3 mg/kg/dia) foi estabelecido com base nas alterações hematológicas observadas nos animais que receberam a dose de 6 mg/kg por dia (Mertens, 2000).

Estudo 3

Espécie: Ratos *Wistar*

Número de animais: 10 por sexo/grupo

Concentrações: 0, 10, 50 ou 100 ppm

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: Até 90 dias

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não especificada

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL ou outra *guideline*

NOAEL: 10 ppm, equivalente a 0.68 e 0.75 mg/kg/dia em machos e fêmeas respectivamente

Resumo do estudo:

Os animais foram alimentados com dietas contendo cihexatina nas concentrações de 10, 50 ou 100 ppm, adicionalmente um grupo controle foi mantido com dieta normal. Dez animais de cada sexo por grupo foram sacrificados em 3 diferentes momentos do tratamento: 50 dias, 90 dias e 120 dias (após 30 dias de recuperação). Não foram observados mortalidade ou sinais clínicos relacionados ao tratamento. O peso corporal diminuiu nos animais tratados com as doses de 50 e 100 ppm, com os efeitos sendo evidentes no dia 50 de tratamento e persistindo até o dia 90, desaparecendo após o período de recuperação. O consumo de alimentos dos animais nas doses de 50 e 100 ppm foi menor durante o período de tratamento, mas não foi observado no período de recuperação. A média da contagem eritrocitária no grupo tratado com 100 ppm foi 13% (machos) e 21% (fêmeas) inferior a dos controles em 90 dias, o que não ocorreu com 50 dias de tratamento e após 30 dias de recuperação. Em machos, a atividade da fosfatase alcalina no soro foi aumentada (41-54%) na maior dose, em todos os tempos de sacrifício; e em fêmeas apenas na maior dose (35%) no dia 50. A análise da urina não mostrou alterações relacionadas ao tratamento. Não houve alterações no peso dos órgãos. Não foram observadas alterações patológicas macroscópica nos animais sacrificados após 50 dias, ou após o período de recuperação, porém, os animais sacrificados com 90 dias, mostraram alterações nos fígados. Três ratos da dose de 50 ppm e 6 ratos da dose de 100 ppm apresentaram fígados espessados. Microscopicamente, os fígados dos animais das doses de 50 ou 100 ppm, sacrificados após 90 dias de tratamento, apresentaram alterações patológicas como necrose celular, alterações lipídicas, infiltração por linfócitos e macrófagos, aumento no número de células de Kupffer ativadas e aumento no número de hepatócitos mitóticos. Alterações histopatológicas foram também observadas no coração dos animais tratados com a maior dose e sacrificados após 90 dias de tratamento, e incluíram o aumento no número de monócitos nas regiões perivasculares do miocárdio. Foram observadas alterações testiculares nos animais do grupo que recebeu a maior dose e que foram sacrificados após 50 ou 90 dias de tratamento. Estas alterações incluíram aumento da frequência de degeneração de espermatozoides nos túbulos, edema intersticial e focos hemorrágicos. Nenhuma lesão testicular foi observada em animais sacrificados após o período de recuperação. O NOAEL foi (10 ppm) foi determinado com base nas alterações hepáticas observadas nos animais que receberam a dieta contendo 50 ppm de cihexatina (Dickhaus & Heisler 1981c).

Estudo 4

Espécie: Cães *Beagle*

Número de animais: 4 por sexo/grupo

Doses: 0, 1.5, 3 ou 6 mg/kg/dia

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 90 dias

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não especificada

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL ou outra *guideline*

NOAEL: 6 mg/kg/dia

Resumo do estudo:

Todos os animais receberam durante a primeira semana a dieta ajustada para fornecer cihexatina na dose de 1.5 mg/kg/dia. Na segunda semana dois grupos tiveram as doses ajustadas para 3 mg/kg/dia e na terceira semana um desses grupos teve a dose ajustada para 6 mg/kg/dia. Os grupos foram mantidos recebendo as doses de 1.5, 3 e 6 mg/kg/dia até o final do tratamento, enquanto um grupo controle foi mantido recebendo dieta normal. Todos os animais sobreviveram ao estudo e não foram observados efeitos relacionados ao tratamento incluindo sinais clínicos, peso corporal e dos órgãos, consumo de alimentos, parâmetros clínico-laboratoriais, análise urinária, patologia macroscópica e histopatologia (Lindberg, 1977).

Estudo 5

Espécie: Ratos *Wistar*

Número de animais: 5 por sexo/grupo

Concentrações: 0, 0.077, 0.207 ou 0.596 mg/l

Via: Inalatória

Tempo de exposição: 6 h por dia, 5 dias por semana durante 2 semanas

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 95%

Qualidade do estudo: O estudo não seguiu as normas BPL ou outra *guideline*

NOAEC: 0.077 mg/l

Resumo do estudo:

Os animais foram expostos por inalação nasal à cihexatina em 3 diferentes concentrações: 0.077, 0.207 ou 0.596 mg/l, enquanto um grupo controle foi mantido na ausência de cihexatina. O tamanho das partículas utilizadas foi <7 µm (85-90%). Nenhum dos animais morreu durante o período de tratamento, e nenhum sinal clínico foi relatado. O ganho de peso corporal apresentou uma diminuição em ambos os sexos, na maior dose. Neste mesmo grupo foram observados aumentos no tempo de protrombina, nos níveis de alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e uréia em amostras de sangue coletadas. Aumentos nos níveis de alanina aminotransferase e fosfatase alcalina foram observados em machos na dose intermediária. Traços de albumina e bilirrubina foram encontrados na urina de animais tratados com a maior dose. Houve um aumento dose-relacionado do peso dos pulmões de machos e fêmeas na dose de 207 mg/m³ ou mais. A análise macroscópica revelou exudatos nasais, inflamação na mucosa traqueobronquial e congestão pulmonar, nos animais que receberam as duas maiores doses. Nestes animais a análise microscópica revelou lesões relacionadas ao tratamento nos pulmões (pneumonite intersticial), fígado (necrose hepatocelular), rins (degeneração tubular) e na mucosa nasal (inflamação) (Shiram Institute, 1986).

Estudo 6

Espécie: Coelhos *New Zealand*

Número de animais: 5 por sexo/grupo

Doses: 0, 0.1, 0.3 ou 1 mg/kg/dia

Via: Transdérmica

Tempo de exposição: 6 h por dia, 5 dias por semana durante 3 semanas

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 95.5%

Qualidade do estudo: De acordo com as normas BPL

NOAEL: 0.3 mg/kg/dia

Resumo do estudo:

Os animais receberam aplicações tópicas de cihexatina em óleo de milho, enquanto o grupo controle recebeu apenas o veículo. Não foram observados efeitos relacionados ao tratamento na taxa de mortalidade, no peso corporal e nos parâmetros hematológicos. Foi observado um aumento de 79% na atividade sérica da fosfatase alcalina em fêmeas tratadas com a maior dose, entretanto este efeito não foi observado nos outros grupos. Foram observadas lesões dérmicas nos locais de aplicação, porém nenhuma outra alteração patológica macroscópica foi verificada. O peso dos órgãos não foi afetado pelo tratamento. O NOAEL foi baseado no aumento da atividade sérica da fosfatase alcalina em fêmeas (Corley & Johnson 1986).

O conjunto de dados avaliados mostra que a cihexatina apresenta efeitos tóxicos relevantes como alterações hepáticas e hematológicas, observadas independentemente da via de administração utilizada. Esses efeitos basearam a fixação do NOAEL de 0.68 mg/kg/dia, observado em ratos machos da linhagem *Wistar*. A exposição de cihexatina por via transdérmica em coelhos resultou na alteração da atividade sérica da enzima fosfatase alcalina, um importante marcador de dano hepático, corroborando com a ocorrência destes mesmos efeitos em estudos de toxicidade aguda, carcinogenicidade e toxicidade reprodutiva.

3.4. Genotoxicidade

A genotoxicidade da cihexatina foi avaliada através de um conjunto aceitável (GLP) de ensaios, que cobriu os desfechos mais relevantes (mutação em bactéria, mutação em células de mamíferos, clastogenicidade em células de mamíferos, reparo do DNA em células de mamífero e genotoxicidade *in vivo*), resumido nos Quadros 1A e 1B. A maioria dos estudos realizados satisfaz as exigências das diretrizes internacionais.

Alguns ensaios de genotoxicidade *in vitro* produziram resultados que suscitaram alguma discussão. Por exemplo, o ensaio citogenético (Kennelly & Kirkland, 1985, *apud* JMPR, 2005) gerou resultados equivocados, e os dados do ensaio de mutação no gene xantina-guanina-fosforribosil transferase (XPRT) foram positivos, quando a cihexatina foi avaliada na presença de mistura de ativação metabólica (Stankowski, 1997, *apud* JMPR, 2005). Entretanto, os resultados do ensaio para verificação de mutação no gene hipoxantina-guanina-fosforribosil transferase (HGPRT) (Mendrala, 1986, *apud* JMPR, 2005), foram negativos.

No ensaio *in vitro* HGPRT, em células CHO, a cihexatina aumentou significativamente o número de colônias mutantes, nas concentrações de 3,2, 4,1 e 4,5 $\mu\text{mol/l}$, na presença de mistura S9. Os aumentos observados foram dose-dependentes, mas estavam dentro da faixa do controle histórico do laboratório. Além disso, quando outro experimento independente foi executado, não houve aumento do número de mutações, em nenhuma das concentrações testadas, na presença ou na ausência de ativação metabólica. Assim, o resultado foi interpretado como negativo. (JMPR, 2005). No ensaio *in vitro* XPRT, em células CHO, a cihexatina aumentou significativamente as freqüências de mutações nas maiores doses testadas, tanto na presença (5000 ng/ml), quanto na ausência (167 ng/ml) de sistema de ativação metabólica (mistura S9). As doses de 16,7 e 50 ng/ml, testadas sem S9, também provocaram um aumento do número de mutantes. Entretanto, os aumentos verificados não foram relacionados às doses testadas. Em um experimento adicional, as maiores doses testadas, na presença de mistura S9, causaram um aumento na freqüência de mutações; na ausência da mistura de ativação, a penúltima dose testada provocou aumento do número de mutantes, o que não ocorreu com a maior dose. Os resultados obtidos na presença de ativação metabólica indicaram que a cihexatina foi genotóxica, mas os obtidos na ausência de ativação permaneceram duvidosos. Estes resultados demonstraram que a cihexatina apresentou potencial para causar mutações gênicas no *locus* XPRT. (JMPR, 2005).

O ensaio de clastogenicidade *in vitro* (Kennelly & Kirkland, 1985, *apud* JMPR, 2005) também produziu resultados duvidosos. Em dois experimentos independentes, usando diferentes clones de células CHO, a cihexatina causou pequenos aumentos no número de células apresentando aberrações cromossômicas. Em um dos experimentos, este aumento foi significativo quando comparado ao controle negativo, e foi observado na maior dose testada, com e sem ativação metabólica. Entretanto, esse aumento foi observado em apenas uma das réplicas das culturas utilizadas. No segundo experimento, foi houve um aumento do número de aberrações cromossômicas nas células tratadas com a maior de cihexatina, na presença e na ausência de ativação metabólica. Porém, a incidência das aberrações foi menor do que o limite superior da faixa dos valores do controle histórico. Nenhuma conclusão clara pode ser tirada a partir dos dados fornecidos por estes ensaios citogenéticos. (JMPR, 2005).

Hrelia et. al, 1994 também descreveram um resultado fracamente positivo, quando a troca de cromátides irmãs foi avaliada em linfócitos periféricos humanos tratados com cihexatina, na ausência de ativação metabólica.

Os demais ensaios de genotoxicidade *in vitro* (mutações reversas em procariotos e síntese não programada de DNA) e *in vivo* (indução de micronúcleos e síntese não programada de DNA) produziram resultados claramente negativos. De acordo com a US-EPA-*Cancer Assessment Document: Evaluation of the Carcinogenic Potential of Cyhexatin*, 2005, a confiabilidade na negatividade dos resultados provenientes dos ensaios *in vivo* é alta, uma vez que houve uma indicação clara de que a cihexatina atingiu os tecidos/células alvo. Além disso, os fracos resultados positivos e/ou duvidosos obtidos *in vitro*, não podem ser entendidos como evidência definitiva da mutagenicidade da cihexatina.

As evidências dos estudos de genotoxicidade indicaram que a cihexatina provavelmente não implica em risco genotóxico para animais ou seres humanos. (JMPR, 2005).

QUADRO 1A: Estudos <i>in vitro</i> realizados para avaliação da genotoxicidade da cihexatina					
Desfecho:	Microorganismo/Linhagem de células	Dose/Concentração	Pureza (%)	Resultado	Referência
Mutação reversa	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98 e TA100 Ensaio realizado na presença e na ausência de sistema de ativação metabólica (mistura S9).	0,63-200 µg/placa, em DMSO	95,6	Negativo	Mendrala, (1995a), <i>apud</i> JMPR, 2005
Mutação reversa	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100 e TA102; <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> Ensaio realizado na presença e na ausência de sistema de ativação metabólica (mistura S9).	0,5-500 µg/placa, em DMSO	93	Negativo	Satankowski, (1996), <i>apud</i> JMPR, 2005
Mutação reversa	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1538, TA98, TA100 Ensaio realizado na presença e na ausência de sistema de ativação metabólica (mistura S9).			Negativo	Quinto, et. al, 1981
Mutação (locus XPRT)	Células de ovário de hamster chinês (AS52-CHO) Ensaio realizado na presença e na ausência de sistema de ativação metabólica (mistura S9).	50-5000 ng/ml, em DMSO (+S9); 1,67-167 ng/ml (-S9)	93	Positivo, +S9; Equivocado, -S9	Satankowski (1997a), <i>apud</i> JMPR, 2005
Mutação (locus HGPRT)	Células de ovário de hamster chinês (CHO-K ₁ BH ₄) Ensaio realizado na presença e na ausência de sistema de ativação metabólica (mistura S9).	2,7-4,5 µmol/l, em DMSO (+S9); 10-50 nmol/l (-S9)	95,6	Negativo	Mendrala, (1986), <i>apud</i> JMPR, 2005
Ensaio citogenético	Células de ovário de hamster chinês (CHO) Ensaio realizado na presença e na ausência de	0,5-4,0 µg/ml, em DMSO (+ S9);	NF	Equivocado	Kennelly & Kirkland (1985), <i>apud</i> JMPR, 2005

	sistema de ativação metabólica (mistura S9).	0,05-0,4 µg/ml (-S9)			
QUADRO 1A: Estudos <i>in vitro</i> realizados para avaliação da genotoxicidade da cihexatina					
Desfecho:	Microorganismo/Linhagem de células	Dose/Concentração	Pureza (%)	Resultado	Referência
Troca de cromátides irmãs	Cultura de linfócitos periféricos humanos	5-50 µg/ml	99,0	Positivo, -S9	Hrelia, et. al., 1994
Síntese não programada de DNA	Cultura primária de hepatócitos de ratos machos, Fischer 344	1,6 x 10 ⁻⁸ a 5 x 10 ⁻⁶ mol/l em DMSO	95,6	Negativo	Mendrala (1985b), <i>apud</i> , JMPR, 2005
Síntese não programada de DNA	Cultura de linfócitos periféricos humanos	5-50 µg/ml	99,0	Negativo	Hrelia, et. al., 1994

+ S9: na presença de mistura de ativação metabólica; - S9: na ausência de mistura de ativação metabólica; INF: não fornecida

QUADRO 1B: Estudos *in vivo* realizados para avaliação da genotoxicidade da cihexatina

Desfecho:	Animais/Tecidos	Dose/Concentração	Pureza (%)	Resultado	Referência
Indução de micronúcleos	Eritrócitos policromáticos da medula óssea de camundongos CD-1 (machos e fêmeas), tratados com uma única injeção i.p.	0,6–6,0 mg/kg, em óleo de milho	93	Negativo	Satankowski (1997b), <i>apud</i> , JMPR, 2005
Indução de micronúcleos	Eritrócitos policromáticos provenientes de medula óssea de camundongos CD-1 (machos e fêmeas), tratados com uma única dose, por via oral.	18-180 mg/kg, em óleo de milho	95,6	Negativo	Bruce et al., (1985), <i>apud</i> , JMPR, 2005
Aberrações cromossômicas	Células de medula óssea de ratos tratados por via oral	40, 80 e 160 mg/kg	99,0	Negativo	Hrelia, et. al., 1994
Dano ao DNA-Ensaio fluorimétrico	Hepatócitos obtidos de ratos tratados intraperitonealmente	1-140,3 mg/kg	99,0	Negativo	Grilli, et.al., 1991

3.5. Carcinogenicidade

3.5.1 Estudo combinado de Toxicidade crônica/Carcinogenicidade - Ratos

(Não GLP; não está de acordo com os padrões estabelecidos pela OECD).

Neste estudo, grupos de 45 machos e 45 fêmeas de ratos *Long-Evans* foram alimentados com uma dieta contendo cihexatina (96,4% de pureza) em concentrações ajustadas para obtenção de 0, 1, 3, 6, ou 12 mg/kg/dia, durante 2 anos. Grupos de 10 animais de cada sexo, e de cada dose foram sacrificados nos seguintes tempos: 6 semanas, 3 meses, 12 meses, 14 meses e 18 meses. Ao final do experimento, os sobreviventes foram sacrificados, e amostras de sangue de 5 ratos/sexo/dose foram coletadas. Análises hematológicas e bioquímicas foram realizado, a saber: contagem de eritrócitos, leucócitos totais e diferenciados, volume da fração eritrocitária, hemoglobina, uréia no sangue, transaminase glutâmica-oxalacética, fosfatase alcalina, colesterol, glicose e bilirrubina. A urina não foi avaliada. Todos os animais mortos foram submetidos à necropsia e os seguintes órgãos avaliados: coração, fígado, cérebro, rins, baço, glândulas adrenais e pituitárias, e testículos.

Os resultados demonstraram que a dose de 12 mg/kg/dia de cihexatina provocou uma diminuição do ganho de peso corporal e do consumo de alimento, em ambos os sexos. Foi observado um aumento do peso relativo do baço de fêmeas tratadas com 12mg/kg/dia nos meses 12 e 24, o mesmo tendo ocorrido com o peso relativo dos fígados, porém, somente no mês 12. Entretanto, o composto não alterou os demais parâmetros avaliados, como mortalidade, sinais clínicos, parâmetros hematológicos e bioquímicos. Não foram observadas alterações patológicas grosseiras e/ou histopatológicas relacionadas ao tratamento. O conjunto de dados obtidos neste estudo sugeriu que a cihexatina não foi carcinogênica. (Eisenlord et.al., 1970b, *apud* IPCS-JMPR, 2005).

Baseado no efeito observado na maior dose (diminuição do peso corporal), o NOAEL estabelecido foi de 6 mg/kg/dia (*Pest Management Regulatory Agency Health Canada: Cyhexatin Decision Document-E89-01*). Entretanto, existe um segundo valor de NOAEL, correspondente a 3 mg/kg/dia, estabelecido com base no aumento do peso relativo do fígado na dose de 6 mg/kg/dia (Eisenlord, 1970b, *apud* IPCS-JMPR, 2005).

3.5.2 Estudo combinado de Toxicidade crônica/Carcinogenicidade (GLP) - Ratos

Neste estudo, grupos de 50 machos e 50 fêmeas de ratos *Sprague-Dawley* foram alimentados com uma dieta contendo cihexatina (97,2% de pureza) em concentrações ajustadas para obtenção de 0, 1, 3 ou 6 mg/kg/dia, durante 2 anos. Os seguintes parâmetros foram analisados: sinais clínicos, mortalidade, peso corporal, consumo de alimento, ingestão do composto, oftalmologia (somente no mês 24), patologia grosseira, peso dos órgãos, e histologia de lesões neoplásticas e não neoplásticas. Não foram feitas as avaliações hematológicas, a química clínica e análise da urina. A avaliação histopatológica não foi realizada em todos os tecidos dos animais tratados, nem com a menor, nem com a dose intermediária.

A mortalidade observada durante o período de tratamento variou de 26% a 60%, mas não foi dose-dependente.

Houve uma diminuição dose-relacionada do peso corporal das fêmeas em todas as doses testadas. Nos machos, essa diminuição foi observada apenas nas doses de 3 e 6 mg/kg/dia. Na maior dose, essa diminuição foi observada a partir dos dias 40 (nas fêmeas) e 70 (nos machos); nas menores doses, a diminuição do peso foi constatada somente no final do estudo. O consumo de alimento também diminuiu em todas as doses (machos e fêmeas); na dose de 6 mg/kg/dia, o consumo começou a diminuir no dia 21, enquanto nas menores doses, mais tardiamente.

Em animais que receberam 3 e 6 mg/kg/dia os efeitos observados compreenderam: perda da condição física, atrofia muscular, focos e nódulos no fígado, manchas no fígado, aumento das glândulas pituitárias (machos), ulcerações estomacais, aumento do baço (fêmeas), e diminuição do peso rins, fígado e dos testículos. A diminuição do peso desses órgãos foi associada à diminuição de peso dos animais afetados. Na maior dose, ocorreu um aumento do peso das glândulas pituitárias (machos) e do baço (fêmeas).

Os exames histopatológicos revelaram que, em todos os grupos tratados, houve um aumento significativo e dose-relacionado, da incidência de lesões não neoplásticas, como alterações celulares no fígado, hiperplasia de dutos biliares e fibrose biliar. Não foram observadas lesões neoplásticas que pudessem ser atribuídas ao tratamento (Tabela 7).

Também foi observado, na maior dose testada, um aumento da miopatia degenerativa muscular, da inflamação da traquéia e da mielopatia radicular do cordão espinhal e/ou nervos. Entretanto, o número de tecidos examinados, provenientes de animais tratados com as menores doses, foi insuficiente para a determinação dos NOAELs para estas lesões. [Warner et al, 1977, *apud* (US-EPA: *Revised Toxicology Disciplinary Chapter for the Registration Eligibility Decision Document*, 2005 e JMPR, 2005)].

Tabela 7: Incidência (%) de hiperplasia nos dutos biliares de ratos tratados com cihexatina na dieta, durante 24 meses. (Warner et al, *apud* JMPR, 2005)

Dose (mg/kg/dia)	Machos	Fêmeas
0	8	8
1	39	50
3	62	72
6	72	72

A FAO/WHO (1981), com o intuito de elucidar o significado da hiperplasia focal do duto biliar dos ratos, encaminhou todas as lâminas de fígado para um patologista independente, para serem reavaliadas microscopicamente. O patologista apontou que aquele tipo de hiperplasia era um achado comum em fígados de ratos mais velhos de várias linhagens, e que não tinha, portanto, um significado patológico relevante. Neste caso, era mais provável que alguns fatores ambientais, como contaminantes na comida ou deficiência, fossem responsáveis pela alta incidência observada. A hiperplasia foi considerada “espontânea”, e não relacionada ao tratamento com cihexatina. (*Pest Management Regulatory Agency Health Canada: Cyhexatin Decision Document-E89-01*).

Os dados deste estudo indicaram que a cihexatina não foi carcinogênica. O LOAEL sistêmico determinado (baseado nos efeitos observados no fígado – hiperplasia dos dutos biliares) foi de 1 mg/kg/dia. Embora o NOAEL não tenha sido estabelecido, este valor foi estimado como sendo < 1 mg/kg/dia. [Warner et. al., 1977, *apud* (JMPR, 2005 e US-EPA: *Revised Toxicology Disciplinary Chapter for the Registration Eligibility Decision Document*, 2005)].

Este estudo foi considerado como “*Acceptable-Guideline*” e satisfaz os requerimentos para estudo de carcinogenicidade em ratos.

3.5.3 Estudo combinado de Toxicidade crônica/Carcinogenicidade (GLP) - Ratos

Neste estudo, grupos de 70 machos e 70 fêmeas de ratos Sprague-Dawley foram alimentados com dieta contendo cihexatina (pureza de 98,3 e 99,2%), nas concentrações de 0, 7,5, 30 e 180 ppm, durante 24 meses. As concentrações utilizadas forneceram doses de 0, 0,34, 1,39 e 8,71 mg/kg/dia para machos, e 0, 0,43, 1,75 e 10,21 mg/kg/dia para fêmeas. Grupos de 10 machos e 10 fêmeas foram sacrificados na semana 52 para avaliação da toxicidade crônica, enquanto outros grupos de 10 machos e 10 fêmeas foram avaliados quanto à atividade locomotora e aos parâmetros funcionais (*home-cage, handling, open-field*, observações sensoriais e neuromusculares). Na 52ª semana, 10 fêmeas e 10 machos retirados de cada grupo foram submetidos a exame neuropatológico microscópico (cérebro, cordão espinhal, nervos periféricos, olhos e músculos). Os ratos remanescentes foram mantidos com suas respectivas dietas por 104 semanas, para avaliação dos efeitos a longo-prazo.

Os animais sobreviventes não apresentaram alterações nos sinais clínicos avaliados, parâmetros hematológicos e urinários, ou achados oftalmoscópicos, em nenhuma das doses de cihexatina utilizadas. Foram observadas diminuições estatisticamente significativas e dose-relacionada, no peso corporal, no ganho de peso e no consumo de alimento dos animais tratados com 180 ppm, com relação aos animais controles. Durante o primeiro ano do estudo, os machos tiveram um ganho de peso 37% menor do que os controles, chegando a pesar 27% a menos ($p < 0,01$), enquanto a diminuição do peso e do ganho de peso observados nas fêmeas foi de 15-34% e 46%, respectivamente. Ao final do estudo, machos e fêmeas tratados com a maior dose apresentaram ganhos de peso total, 43% e 50% inferiores aos registrados nos controles correspondentes. Os machos consumiram 17-26% a menos do que os controles no primeiro ano, e 8-17% a menos no segundo. As fêmeas consumiram 15-39% menos alimento com relação aos grupos controles, até a semana 91. Apesar de ter sido levantada a questão da impalatabilidade isso pode ser refutado em virtude dos estudos de toxicidade do desenvolvimento conduzidos em ratos pela via de administração oral (gavagem), inclusive com a dose de 30 ppm, terem apresentado diminuição do peso corpóreo nos grupos tratados com cihexatina.

A avaliação *postmortem* mostrou diferenças nos pesos absoluto e/ou relativo dos órgãos dos animais de ambos os sexos, quando tratados com a maior dose. Essa alteração pode ter sido atribuída à substância, pois conforme mencionado acima a impalatabilidade foi um dado não relacionado à diminuição

do peso, uma vez que animais que receberam o alimento com cihexatina por gavagem apresentaram a mesma redução corpórea. Os exames mais minuciosos revelaram algumas alterações importantes, como: atrofia da retina e hiperplasia dos dutos biliares (não neoplásicas) e aparecimento de adenomas hepatocelulares (neoplásicas) (Tabelas 8 e 9).

Nas fêmeas, a atrofia da retina foi observada nas doses de 30 e 180 ppm, enquanto nos machos o efeito ocorreu apenas na maior dose, e o grau de severidade deste efeito foi maior, nas maiores doses. A incidência de hiperplasia dos dutos biliares aumentou significativamente nas doses de 30 e 180 ppm, nos machos, e em todas as doses testadas, nas fêmeas. O grau de severidade da hiperplasia observada na maioria dos animais (mínima ou média) não foi correlacionado à dose testada. Neste caso, a hiperplasia pareceu não estar relacionada ao tratamento com a cihexatina – foi atribuída às pequenas frequências observadas fortuitamente nos controles (Tabela 9).

De acordo com a tabela 10, houve um aumento da incidência de adenomas hepatocelulares nas fêmeas tratadas com as doses de 30 e 180 ppm, mas, após a comparação com o grupo controle, a significância estatística foi obtida apenas para a maior dose ($p \leq 0,05$). O aumento da incidência da combinação adenomas/carcinomas hepatocelulares, observado na maior dose, na realidade, refletiu o aumento do número de adenomas, uma vez que não foram detectados carcinomas (Tabela 9). Nos machos, não foi constatado o aumento da incidência de nenhum tipo de tumor que pudesse ser decorrente da exposição à cihexatina. Além disso, não foram observadas lesões pré-neoplásicas. [Mertens et al, 2004, *apud* (US-EPA: *Revised Toxicology Disciplinary Chapter for the Registration Eligibility Decision Document*, 2005 e JMPR, 2005)].

A faixa de incidência de adenomas hepatocelulares em fêmeas do controle histórico do laboratório que realizou o estudo, variou de 2 a 8%. Desta forma, apenas a incidência de adenomas observada com 180 ppm (12%) estava um pouco acima do limite superior da faixa histórica. A CARC/US-EPA (*Cancer Assessment Review Committee of the Health Effects Division of the Office of Pesticide Programs*) considerou os resultados deste estudo (ocorrência de adenomas hepáticos) como, no máximo, uma evidência sugestiva de carcinogenicidade em ratos fêmeas, decorrente da exposição crônica à cihexatina. (US-EPA-*Cancer Assessment Document: Evaluation of the Carcinogenic Potential of Cyhexatin*, 2005).

Os valores de LOAEL para cihexatina estabelecidos foram: a) Para machos: 1,39 mg/kg/dia (30 ppm), baseado no aparecimento de hiperplasia nos dutos biliares; b) Para fêmeas: 0,43 mg/kg/dia (7,5 ppm), baseado no aparecimento de hiperplasia nos dutos biliares e atrofia de retina. Já o NOAEL foi de 0,34 mg/kg/dia (7,5 ppm) para machos; para fêmeas este valor não foi estabelecido. (US-EPA: *Revised Toxicology Disciplinary Chapter for the Registration Eligibility Decision Document*, 2005).

Tabela 8: Incidência de hiperplasia dos dutos biliares e atrofia da retina em ratos tratados com cihexatina na dieta, durante 24 meses. (Mertens, 2004, <i>apud</i> JMPR, 2005)				
Concentração de cihexatina na dieta (ppm)				
	0	7,5	30	180
Machos				
Atrofia da Retina:				
Olhos examinados	48	47	53	48
Total	2	4	6	17 *
Mínima	2	3	2	7
Média	0	0	2	8
Moderada	0	1	1	1
Severa	0	0	1	1
Hiperplasia dos dutos biliares:				
Fígados examinados	60	60	60	60
Total	17	22	31 *	38 *
Mínima	13	16	18	24
Média	3	4	12	12
Moderada	1	2	1	2
Fêmeas				
Atrofia da Retina:				
Olhos examinados	58	52	51	50

Total	2	7	13 *	34 *
Mínima	2	6	6	18
Média	0	1	5	8
Moderada	0	0	0	7
Severa	0	0	2	1
Hiperplasia dos dutos biliares:				
Fígados examinados	60	60	60	60
Total	16	30 *	45 *	33 *
Mínima	12	17	31	26
Média	4	13	13	6
Moderada	0	0	1	1

* Diferença estatisticamente significativa do grupo controle ($p < 0,05$)

Tabela 9: Incidência de tumores em fígados de fêmeas tratadas com cihexatina. (US-EPA - Cancer Assessment Document: Evaluation of the Carcinogenic Potential of Cyhexatin, 2005)

Doses (ppm)	0	7,5	30	180
Adenomas (%)	0/50 (0)	0/50 (0)	4/50 (8)	6/50 * (12) *
P=		1,00000	0,05873	0,01333 *
Carcinomas (%)	0/50 (0)	1/50 (2)	1/50 (2)	0/50 (0)
P=		0,50000	0,50000	1,00000
Adenomas + Carcinomas (%)	0/50 (0)	1/50 (2)	4 ^a /50 (8)	6/50 * (12) *
P=		0,50000	0,05873	0,01333 *

* Diferença estatisticamente significativa do grupo controle ($p < 0,05$)

Os animais sacrificados no meio do experimento não foram incluídos nesta análise

^a Um mesmo animal apresentou um adenoma e um carcinoma

3.5.4 Estudo combinado de Toxicidade crônica/Carcinogenicidade (Não GLP) - Camundongos

Neste estudo, grupos de 60 machos e 60 fêmeas de camundongos B6C3F1 receberam dieta contendo cihexatina (98% de pureza), em concentrações ajustadas para atingir as doses de 1, 3 ou 6 mg/kg/dia, por 2 anos. Os grupos controles foram constituídos por 96 machos e 96 fêmeas, que foram alimentados com a dieta basal, em regime comparável. Dez animais de cada sexo, por grupo, foram sacrificados após 12 meses de tratamento, e os seguintes desfechos foram avaliados: sinais clínicos, mortalidade, peso corporal, consumo de alimento, ingestão do composto, hematologia, química clínica, alterações patológicas grosseiras, peso dos órgãos, histologia de lesões neoplásicas e não neoplásicas.

As alterações observadas nos parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos, bem como no peso dos órgãos, na patologia grosseira e na histopatologia (lesões neoplásicas e não-neoplásicas), não foram relacionadas ao tratamento com a cihexatina. Nos machos tratados com a dose de 6 mg/kg/dia, houve um aumento da mortalidade a partir do mês 11, e uma diminuição do peso corporal (2-6%). Efeitos similares não foram observados em fêmeas.

Baseado na inexistência de efeitos tóxicos sistêmicos significativos em fêmeas, o JMPR (JMPR, 2005) não considerou adequadas as doses empregadas neste estudo, para avaliação da carcinogenicidade. O LOAEL determinado foi de 6 mg/kg/dia, e o NOAEL de 3 mg/kg/dia, baseado no aumento da mortalidade dos machos na maior dose. [Keyes et al., 1981, *apud* (JMPR, 2005 e US-EPA: *Revised Toxicology Disciplinary Chapter for the Registration Eligibility Decision Document*, 2005)].

Classificação do potencial carcinogênico

De acordo com as diretrizes para avaliação de risco carcinogênico, estabelecidas pela US-EPA em 1999, a CARC/US-EPA (*Cancer Assessment Review Committee of the Health Effects Division of the Office of Pesticide Program*) considerou a base de dados produzida pelos estudos de carcinogenicidade da cihexatina, como “Dados inadequados para avaliação do potencial carcinogênico em humanos”, levando em conta os seguintes aspectos:

1. Os tumores de fígado observados (item 3.6.3) forneceram evidência sugestiva de carcinogenicidade. Entretanto, os tumores eram adenomas (tumores benignos de origem epitelial), e apareceram em apenas em um dos sexos somente na maior dose. Além disso, nenhuma outra lesão pré-neoplásica foi constatada.
2. No estudo em camundongos, não foram observados tumores relacionados ao tratamento, em nenhum dos sexos. Isto pode ter ocorrido porque as doses utilizadas não foram consideradas altas o suficiente para avaliação do potencial carcinogênico da cihexatina. Desta forma, o estudo em camundongos foi considerado inadequado. (US-EPA-Cancer Assessment Document: *Evaluation of the Carcinogenic Potential of Cyhexatin*, 2005).

3.6 Toxicidade Reprodutiva

A avaliação da toxicidade reprodutiva da cihexatina foi avaliada por meio de treze estudos realizados em ratos e coelhos, dos quais dez investigaram o potencial embriotóxico (toxicidade para o desenvolvimento), dois envolveram a exposição contínua de ratos por mais de uma geração consecutiva e um para avaliar o efeito da restrição da ingestão de alimentos. Os estudos foram submetidos à ANVISA pelas empresas registrantes e ou publicados nos relatórios internacionais da EPA, JMPR (*Joint Meeting on Pesticides Residues*) e IPCS (*International Programme on Chemical Safety*).

3.6.1 Estudo de uma geração

Espécie: Ratos Sprague-Dawley

Número de animais: 25 ♂ e 25 ♀ por grupo

Via: oral (cihexatina micronizada incorporada à ração)

Níveis de Exposição: 0 e 30 ppm

Controle: alimentação *ad libitum* e restrição da ingestão de alimentos (controle pareado – *peer-fed*)

Duração da exposição: início 4 semanas antes do acasalamento continuando durante a gestação e lactação.

NOAEL: 1,9 mg/kg/dia (30 ppm)

Grupos de 25 machos e 25 fêmeas foram expostos à cihexatina (96% de pureza) micronizada incorporada à dieta (30 ppm) por 4 semanas antes do acasalamento, e durante toda a gravidez e lactação. Foram constituídos dois grupos controles: um grupo que recebeu ração *ad libitum*, e um outro grupo (controle pareado) que recebeu apenas a quantidade de ração ingerida pelos ratos expostos à cihexatina.

Não foram observadas mortes ou manifestações grosseiras de toxicidade. Não houve alteração estatisticamente significativa do peso corporal dos machos e fêmeas expostos à cihexatina durante as semanas que antecederam o acasalamento, bem como do peso corporal das mães que continuaram expostas à cihexatina durante a gestação. A quantidade de ração contendo cihexatina ingerida pelos ratos apresentou redução em vários períodos: entre os machos, durante a primeira semana de exposição e, entre as fêmeas, durante as duas primeiras semanas de gestação e nas duas últimas semanas de lactação.

Não foram registrados efeitos adversos relacionados ao tratamento quanto ao desempenho no acasalamento, taxa de gestação, duração da gestação, viabilidade dos filhotes, peso dos filhotes ao nascimento ou no desmame, quando comparados ao controle histórico (Tabela 10).

Embora este estudo não tenha sido planejado para fixação do NOAEL, o fato de não terem sido notados efeitos adversos no único grupo exposto sugere que o NOAEL seria igual ou superior à 30 ppm, que correspondente a 1,9 mg/kg peso corporal/dia (Barrow, 1994a).

Tabela 10: Comparação dos pesos médios dos filhotes

Dia pós- natal	Sexo	Grupo <i>peer-fed</i> (gramas)	Controle Histórico (gramas)	Cihexatina 30ppm (gramas)
1	Machos	7,22	6,3-8,3	7,21
	Fêmeas	6,82	6,0-7,9	6,89
4	Machos	10,25	6,6-10,0	9,98
	Fêmeas	9,96	7,9-11,7	9,71
7	Machos	16,67	13,2-19,0	15,89
	Fêmeas	16,37	12,7-18,3	15,09
14	Machos	34,34	26,5-36,5	32,16
	Fêmeas	33,95	26,0-35,3	30,77
21	Machos	54,65	42,5-61,9	53,08
	Fêmeas	53,95	42,1-59,6	49,81

3.6.2 Estudo dos efeitos da exposição contínua por duas gerações

Espécie: Ratos Sprague-Dawley ;

Número de animais = 30 ♂ e 30 ♀ por grupo

Via: oral (cihexatina incorporada na ração em quantidade variável ajustada de modo a alcançar as doses listadas abaixo)

Doses: 0; 0,1; 0,5; 6,0 mg/kg

Duração: início 10 semanas antes do acasalamento (F0), prosseguindo durante a gestação e lactação da geração parental (F0) e na geração subsequente (F1).

Efeitos: Toxicidade geral (diminuição peso corporal dos adultos (F0 e F1) 6,0 mg/kg); toxicidade pós-natal (diminuição do peso corporal dos filhotes (♀ e ♂) ao desmame nas gerações F1 e F2 na dose de 6,0 mg/kg); **toxicidade hepática** (aumento da incidência de hiperplasia do duto biliar, inflamação periductal e diminuição de glicogênio no fígado nas gerações F1 e F2 na dose de 6,0 mg/kg).

NOAEL: **0,5 mg/kg/dia**

Grupos de 30 ratos machos e 30 fêmeas *Sprague-Dawley* foram alimentados com ração contendo cihexatina (95,5% de pureza) durante duas gerações consecutivas. A concentração de cihexatina na dieta foi ajustada para atingir as doses de 0, 0,1, 0,5 ou 6,0 mg/kg/dia. A exposição começou 10 semanas antes do acasalamento da geração F0 e continuou por toda a gravidez e lactação das fêmeas da geração parental (F0) e na geração subsequente (F1). A geração F0 acasalou uma vez, e 30 machos e 30 fêmeas da geração F1 acasalaram duas vezes para produzir os filhotes das gerações F2a e F2b. Os órgãos dos ratos foram submetidos ao exame histopatológico.

Não foram observados mortes ou sinais clínicos indicativos de toxicidade associados ao tratamento. O peso corporal dos animais adultos das gerações F0 e F1 expostos à maior dose (6,0 mg/kg/dia), bem como o das fêmeas F0 expostas a 0,5 mg/kg/dia, foi menor ($p < 0,05$) do que o peso do grupo controle. Não foram registrados efeitos adversos sobre o acasalamento, concepção e índice de gestação, duração da gestação, índice de sobrevivência gestacional, nascidos vivos e peso ao nascimento. Ao desmame, o peso corporal médio dos filhotes, machos e fêmeas, das gerações F1, F2a e F2b do grupo exposto a 6,0 mg/kg/dia foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que o peso corporal do grupo controle. O número de

filhotes da geração F2b que sobreviveram ao desmame foi menor no grupo exposto à dose de 6,0mg/kg/dia. **O exame histopatológico realizado em ratos adultos da geração F0 e F1 mostrou um aumento da incidência da hiperplasia do ducto biliar, além de inflamação periductal e diminuição de glicogênio no fígado dos animais que receberam a maior dose (6,0 mg/kg/dia).** Não foram observadas alterações nos rins e nos órgãos reprodutivos.

Com base nos efeitos adversos observados na dose de 6,0 mg/kg/dia, incluindo os efeitos hepáticos e a menor sobrevivência ao desmame dos filhotes F2b, o **NOAEL** do presente estudo foi fixado em **0,5 mg/kg/dia**. (Breslin et al., 1987 *apud* JMPR, 2005; EPA, 2005).

3.6.3 Estudo da exposição contínua por duas gerações (Fase de toxicidade do desenvolvimento)

Espécie: Ratos Sprague-Dawley

Número de animais= 25 ♂ e 25 ♀ por grupo

Via: oral (cihexatina micronizada incorporada à ração)

Níveis de exposição: 0; 10; 30; 100 ppm (correspondentes a doses de aproximadamente 0, 0,7, 2,1, 7 mg/kg/dia)

Duração da exposição: início 10 semanas antes do acasalamento (F0) prosseguindo na gestação e lactação da geração parental (F0) e na geração subsequente (F1).

Efeitos: Fertilidade e embriotoxicidade (diminuição do nº implantações (F0 e F1), nº corpos lúteos (F1) e tamanho da ninhada (F0 e F1) em 100ppm, diminuição do tamanho da ninhada (F0) em 30ppm); **toxicidade pós-natal** (diminuição peso corporal dos filhotes ao desmame (F0 e F1) em 30 e 100ppm, atraso da abertura dos olhos (F1) em 30 e 100ppm e atraso da abertura dos olhos (F0) em 100ppm).

NOAEL: 0,7 mg/kg/dia (10 ppm)

Grupos de ratos *Sprague-Dawley* (25 machos e 25 fêmeas) foram alimentados com ração contendo cihexatina micronizada (96% de pureza), nas concentrações de 0, 10, 30 ou 100 ppm, durante duas gerações consecutivas. A exposição de machos e fêmeas da geração F0 teve início 10 semanas antes do acasalamento e continuou na geração F1. A geração F1 acasalou duas vezes tendo produzido os filhotes das gerações F2a e F2b. A avaliação da toxicidade para o desenvolvimento foi realizada após o segundo cruzamento da geração F1 adulta. Neste caso, as mães foram sacrificadas e examinadas no dia 20 de gravidez. A dose média de cihexatina recebida pelas mães da geração F1 durante a gestação da segunda ninhada F2b correspondeu a 0, 1,0, 2,0 e 6,3 mg/kg/dia. Os Exames histopatológicos dos órgãos reprodutivos foram realizados em todos os adultos das gerações F0 e F1.

Não foi registrada a ocorrência dose relacionada de mortes ou outros sinais de toxicidade. No grupo exposto à 100 ppm, houve uma redução na média do número de sítios de implantação (animais da geração F0 e F1), do número de corpos lúteos (geração F1) e do tamanho da ninhada (gerações F0 e F1). O efeito sobre o tamanho da ninhada também foi constatado em ratos da geração F0 expostos à 30 ppm. Nas duas gerações o peso médio dos filhotes ao desmame estava reduzido ($p < 0,01$) entre os expostos à 30 e 100 ppm.

Foi constatado **retardo** do tempo médio de abertura dos olhos entre os filhotes da geração F0 expostos à 100 ppm, e entre os da geração F2a, expostos à 30 e 100 ppm. Alguns filhotes da geração F2a expostos à 100 ppm falharam no teste do reflexo pupilar no dia 21 de vida pós-natal. Não foram encontradas lesões macroscópicas ou microscópicas relacionadas ao tratamento nos progenitores das gerações expostas, nem nos filhotes das gerações F1 e F2a.

Com base nos resultados descritos acima, o NOAEL foi fixado em **0,7 mg/kg/dia** (Barrow, 1994b).

3.6.4 Estudo do potencial embriotóxico em ratos

Espécie: Ratos Sprague-Dawley;

Número de animais= 10 fêmeas grávidas por grupo

Via: oral (entubação gástrica - gavagem)

Veículo: óleo de milho

Doses: 0; 1; 5; 10 mg/kg

Duração/Morte: GD 6-15 / **GD16**

Efeitos: Toxicidade materna (diminuição do ganho de peso materno nos grupos tratados com doses de 5 e 10 mg/kg/dia e aumento do peso do fígado materno no grupo exposto à 10 mg/kg/dia);

NOAEL: 1,0 mg/kg/dia

Este estudo de foi realizado em condições de observância das Boas Práticas de Laboratório (BPL). Grupos de **10 fêmeas Sprague-Dawley** grávidas receberam cihexatina (95,5% de pureza) em óleo de milho por via oral, nas doses de 0, 1, 5 ou 10 mg/kg/dia, nos dias 6-15 de gestação. As mães foram mortas e necropsiadas no dia **16 de gestação** e seus fígados e rins foram retirados e pesados. Os seguintes desfechos foram avaliados: número de corpos lúteos, número de sítios de implantação, e número e posição dos fetos vivos e reabsorvidos. O estudo não estava de acordo com o protocolo n. 414 (OECD, 2001b), pois o tamanho dos grupos foi menor do que o preconizado e os fetos foram retirados prematuramente (por exemplo, antes do término do período de gestação-21º dia).

As mães tratadas com cihexatina apresentaram menor **ganho de peso nas doses de 5 e 10 mg/kg/dia, e aumento do peso relativo do fígado na maior dose**. Não foram notados efeitos adversos sobre o desenvolvimento fetal.

Com base na redução do ganho de peso corporal materno, o **NOAEL** (toxicidade materna) foi fixado em **1 mg/kg/dia** (Scortichini et al., 1986 *apud* JMPR, 2005).

3.6.5 Toxicidade para o desenvolvimento

Espécie: Ratos Sprague-Dawley;

Número de animais=ND

Via: oral (entubação gástrica – gavagem)

Níveis de Exposição: 0; 0,5; 1,0; 5,0 mg/kg

Duração / Morte: GD 6-15 / GD20

Efeitos: Toxicidade materna (diminuição do peso corporal materno e do consumo de alimento, e aumento do peso do fígado (5,0 mg/kg)

NOAEL: Toxicidade materna = **1,0 mg/kg/dia**; Toxicidade para o desenvolvimento \geq **5,0 mg/kg/dia**

Em um estudo de toxicidade para o desenvolvimento, fêmeas grávidas *Sprague-Dawley* (*Charles River Laboratories, Inc., Portage, MI*) receberam 0, 0,5, 1,0 ou 5,0 mg/kg/dia de cihexatina (95,6% de pureza) em óleo de milho, por via oral (gavagem), do dia 6 ao dia 15 de gestação. Os animais foram observados quanto à mortalidade e sinais clínicos e foram pesados nos dias 0, 6, 9, 12, 15, 18, e 20 de gestação. Todos os animais sobreviventes foram sacrificados no dia 20 de gestação; o útero gravídico (peso, número e tipos de sítios de implantação), o útero não gravídico (detecção de possíveis sítios de implantação e/ou reabsorções precoces) e os ovários (número de corpos lúteos) foram avaliados. Os órgãos torácicos e abdominais foram examinados, enquanto o fígado e rins foram pesados e fixados para avaliações histopatológicas. Fetos vivos e mortos foram pesados e examinados externamente. Metade dos fetos foi fixada em solução de Bouin e, posteriormente, examinada quanto a anomalias viscerais. O restante dos fetos foi corado e seus esqueletos foram examinados.

Resultados: A toxicidade materna foi caracterizada pela ocorrência de diminuição do ganho de peso corporal e do consumo de alimentos, e pelo aumento do peso do fígado, na dose de 5,0 mg/kg. Baseado nestes desfechos, o NOAEL para toxicidade materna foi fixado em 1,0 mg/kg/dia e o LOAEL foi fixado em 5,0 mg/kg/dia.

O NOAEL estabelecido para toxicidade para o desenvolvimento foi \geq 5,0 mg/kg/dia, e o LOAEL foi maior que 5,0 mg/kg/dia, uma vez que não foi observada toxicidade para o desenvolvimento nos níveis de dose testados (Shardein, J.L., 1986a *apud* EPA, 2005).

3.6.6 Estudo do potencial embriotóxico em ratos

Espécie: Ratos Sprague-Dawley;

Número de animais= 30 ♀ grávidas por grupo

Via: oral (entubação gástrica - gavagem)

Veículo: óleo de milho

Doses: 0; 0,5; 1,0; 5,0 mg/kg/dia

Duração do tratamento: GD 6-15

Dia da Cesárea: GD20

Efeitos: Toxicidade materna – aumento dos pesos absoluto e relativo do fígado e do peso do útero (5,0mg/kg/dia); **Embriofetotoxicidade** - Malformações: microftalmia em 1, 2 e 2 fetos (0,5; 1,0; 5,0 mg/kg/dia), anomalias da cauda em 1, 0, 1 e 3 fetos (0; 0,5; 1,0; 5,0 mg/kg/dia), fusão de ossos do crânio em 1 feto (5,0mg/kg/dia), fenda palatina em 1 e 1 feto (0,5 e 1,0 mg/kg/dia), alterações das vértebras pré-sacrais em 6 fetos de 6 ninhadas (5,0 mg/kg/dia).

NOAEL: 1,0 mg/kg/dia

Grupos de 30 fêmeas *Sprague-Dawley* (*Charles River COBS CD*) de 84 dias foram acasaladas, e o dia em que foi encontrado o “*plug*” vaginal foi considerado dia “0” de gestação. As fêmeas grávidas foram tratadas com cihexatina (95,6% de pureza) suspensa em óleo de milho administrada por via oral (0, 0,5, 1,0 ou 5,0 mg/kg/dia, volume = 2 ml/kg) nos dias 6 - 15 de gestação. As ratas foram monitoradas durante o estudo quanto aos sinais de toxicidade, ao peso corporal, e ao consumo de água e alimento. No dia 20 de gestação as fêmeas foram mortas e o útero, o ovário e outros órgãos foram examinados. Os fetos foram pesados e examinados quanto à presença de malformações externas. Metade dos fetos foi dissecada para detecção de malformações viscerais e a outra metade foi diafanizada e corada para exame das anomalias esqueléticas.

Não foram observados sinais clínicos de toxicidade nem alterações relacionadas ao tratamento do consumo de água, do número de fetos viáveis por mãe, do número e tipo de reabsorções, do peso corporal fetal ou da razão sexual. Foi constatado um **aumento dos pesos absoluto e relativo do fígado materno**, e um aumento da média do peso do útero gravídico no grupo que recebeu 5 mg/kg/dia. O NOAEL para toxicidade materna foi fixado em 1 mg/kg.

As incidências de anomalias fetais [fetos (ninhada)] foram 4(3), 3(2), 2(2) e 6(6) nas doses 0, 0,5, 1,0 e 5,0 mg/kg, respectivamente. **Microftalmia** foi observada em fetos de mães tratadas com 0,5, 1,0 e 5,0 mg/kg (esta malformação **não** estava listada nos dados do controle histórico do laboratório). **Anomalias da cauda** (caudas curtas, filamentosas ou tortas) foram encontradas. Um feto de mãe exposta à dose de 5 mg/kg apresentou fusão dos ossos do crânio. Os fetos provenientes de mães tratadas com a menor dose, e com a dose intermediária que exibiam microftalmia, também apresentavam outras malformações (Tabela 11), incluindo **fenda palatina (0,5 e 1 mg/kg), fenda labial (0,5mg/kg), micrognatia (1,0 mg/kg) e ossos do crânio malformados (1,0 mg/kg)**. Anomalias viscerais foram observadas nos fetos do grupo controle e do grupo tratado com a menor dose. Foram observadas alterações (classificadas como variações) do esqueleto fetal em todos os grupos. Alterações de vértebras pré-sacrais foram observadas em 6 fetos (6 ninhadas) do grupo exposto à dose de 5.0 mg/kg. As variações das vértebras nas doses de 5,0 mg/kg sugerem **efeito fetotóxico**. O NOAEL para embriotoxicidade foi fixado em 1,0 mg/kg (Aldridge et al. 1986 *apud* JMPR, 1989)

Tabela 11: Malformações encontradas em fetos de ratas expostas à cihexatina por via oral durante a gravidez (GD 6-15).

	Dose (mg/kg/dia Cihexatina)			
	0	0,5	1,0	5,0
Microftalmia	0	1	2	2
Anomalias da cauda	1	0	1	3
Fusão de ossos do crânio	0	0	0	1
Fenda Palatina	0	1	1	0
Fenda labial	0	1	0	0
Micrognatia	0	0	1	0
Ossos do crânio malformado	0	0	1	0
Alterações em vértebras pré-sacrais	0	0	0	6

3.6.7 Estudo do potencial embriotóxico em coelhos

Espécie: Coelhos New Zealand
 Número de animais= 7 por grupo
 Via : oral (entubação gástrica -gavagem)
 Doses: **1º fase:** 0; 5; 10; 20 mg/kg
2º fase: 0; 1; 5; 10 mg/kg
 Duração do tratamento: GD 6-18
Dia da Cesárea: GD 19 e GD 20

Efeitos: Toxicidade materna Na dose de 10 e 20 mg/kg houve diminuição do peso corporal e todos os animais morreram, dois animais morreram e o restante apresentou sinais severos de toxicidade na dose de 5 mg/kg; **Embrioletalidade** (reabsorção total de 4 ninhadas (5 mg/kg), 2, 1 e 1 animais mortos → 1; 5; 10 mg/kg; reabsorção total das ninhadas em 1 e 4 fêmeas → 5 e 10 mg/kg; diminuição do peso corporal e aumento do nº de reabsorções (5 e 10 mg/kg)

NOAEL: Não foi possível identificar (< 1mg/kg)

Em um estudo de teratologia, grupos de 7 coelhas fêmeas New Zealand White (Hazleton-Dutchland) foram artificialmente inseminadas e então tratadas com cihexatina suspensa em óleo de milho (0, 5, 10 ou 20 mg/kg/dia, volume =1ml/kg) nos dias 6-18 de gestação. Neste estudo a cesárea e remoção dos fetos para exame foi feita prematuramente (GD 19 e 20), ou seja, mais de uma semana antes da época em que os fetos de coelho estão à termo. O exame do feto retirado prematuramente é muito menos sensível para a detecção de malformações fetais.

Ocorreram 2, 7 e 7 mortes nas doses de 5, 10 e 20 mg/kg, respectivamente, durante 1º período de tratamento. A necropsia revelou lesões na traquéia e nos pulmões de todos os animais que morreram, sugerindo que a técnica usada no tratamento contribuiu para as mortes (possível erro de entubação). Dois animais de cada dose (10 e 20 mg/kg) e todos os 5 sobreviventes da dose de 5 mg/kg tinham erosões no estômago e úlceras. Quatro dos 5 animais sobreviventes da dose de 5 mg/kg tinham reabsorções.

Em um segundo estudo, semelhante ao anterior, coelhos (n = 7) foram tratados com cihexatina (0, 1, 5 ou 10 mg /kg peso corporal/dia), suspensa em metocel 0,5 %, nos dias 7-19 de gestação.

Foram observadas 2, 1 e 1 mortes, nos grupos tratados com 1, 5 e 10 mg/kg, respectivamente. O ganho de peso corporal estava reduzido nas doses de 5 e 10 mg/kg/dia. Nos grupos tratados com as doses de 5 mg/kg e 10 mg/kg, 1 e 4 animais, respectivamente, apresentaram úlceras e erosões cutâneas. Na dose de 10 mg/kg, 4 fêmeas apresentaram sangue no peritônio, o que foi considerado evidencia de aborto recente. Nas fêmeas restantes, o número de fetos viáveis foi significativamente menor do que o número registrado no grupo controle. No grupo exposto à dose de 5 mg/kg, houve um aumento da incidência de reabsorções, com reabsorção total de uma ninhada, e diminuição do número de fetos vivos (Berdasco *et al.* 1986 *apud* JMPR, 2005).

3.6.8 Estudo do potencial embriotóxico em coelhos

Espécie: Coelhos New Zealand ;
Número de animais = 20 ♀ por grupo
Via: oral (entubação gástrica - gavagem)
Doses: 0; 0,5; 1,0; 3,0 mg/kg/dia
Duração do tratamento: GD 7-19
Dia da Cesárea: GD 29

Efeitos: **Embriofetotoxicidade, Embrioletalidade** (4 fêmeas tratadas com 3,0mg/kg abortaram, reabsorção total da ninhada de 1 fêmea de cada dose 0,5 e 3,0 mg/kg), aumento das reabsorções, perdas pós-implantação e diminuição do tamanho da ninhada (3,0 mg/kg); **Teratogenicidade (Hidrocefalia** em 8 fetos de 4 ninhadas e “dome shaped head” em 1 feto abortado na dose de 3,0 mg/kg)
NOAEL: **1,0 mg/kg/dia**

Fêmeas (N=20/grupo) foram tratadas com cihexatina (95,5% de pureza) suspensa em metocel 0,5% (doses: 0, 0,5, 1,0 e 3,0 mg/kg/dia) nos dias 7-19 de gestação. Os coelhos foram alojados individualmente, alimentados *ad libitum* e monitorados durante todo o estudo quanto a sinais clínicos de toxicidade e alterações de peso corporal. As fêmeas que morreram, abortaram ou deram a luz precocemente foram necropsiadas. No dia 29 de gestação todas as fêmeas sobreviventes foram mortas e tiveram o útero e o ovário examinados. Os fetos foram pesados, examinados para ocorrência de malformações e variações externas e fixados. Posteriormente foram examinados para detecção de anomalias viscerais e diafanizados e corados para exame do esqueleto fetal.

Não foram registrados mortes ou sinais gerais de toxicidade relacionadas ao tratamento. Cinco fêmeas abortaram: uma na dose de 0,5 mg/kg e 4 na dose de 3,0 mg/kg; e duas fêmeas (1,0 e 3,0 mg/kg) deram a luz precocemente (GD 28). Duas fêmeas (0,5 e 3,0 mg/kg) tiveram reabsorção total das ninhadas. No grupo tratado com 3,0 mg/kg, o número de fetos viáveis por mãe foi menor e o número de mães com duas ou mais reabsorções estava aumentado. **Observou-se um aumento dose-relacionado do percentual de perdas pós-implantação nas doses de 1,0 e 3,0mg/kg.** O peso corporal fetal e a razão sexual não foram afetados pelo tratamento. **Um aumento da incidência de hidrocefalia foi observado na dose de 3,0 mg/kg (8 fetos em 4 ninhadas).** Nesse grupo um feto abortado tinha “*dome-shaped head*” (efeito raro).

Com base no aumento das perdas pós-implantação (embrioletalidade) o NOAEL foi fixado em 0,5 mg/kg (Schardein *et al.* 1986b *apud* JMPR, 2005; EPA, 2005).

3.6.9 Estudo do potencial embriotóxico em coelhos

Espécie: Coelhos New Zealand ;
Número de animais= 27 ♀ por grupo
Via: oral (entubação gástrica – gavagem)
Doses: 0; 0,75; 3,0 mg/kg/dia
Duração do tratamento: GD 7-19
Dia da Cesárea: GD 28

Efeitos: **Toxicidade materna** - 2, 7 e 4 fêmeas morreram prematuramente nas doses 0; 0,75 e 3,0 mg/kg, diminuição do ganho de peso corporal materno (3,0 mg/kg); **Embriofetotoxicidade** - 2 e 12 abortos → 0,75 e 3,0 mg/kg; aumento das perdas pós-implantação, diminuição da viabilidade fetal e do tamanho das ninhadas (3,0 mg/kg); **Teratogenicidade - Hidrocefalia** em 7(5) fetos (0,75mg/kg) e 9 (4) fetos (3,0 mg/kg) e aumento do nº de ventrículos cerebrais dilatados
NOAEL: < 0,75 mg/kg

Fêmeas (Dutchland New Zealand White) grávidas (N=27) receberam cihexatina (lote AGR 213445; 94,8% de pureza) suspensa em metocel 0,5% e administrada por via oral, nas doses de 0,75 ou 3,0 mg/kg/dia, nos dias 7-19 de gestação. As mães foram mortas no dia 28 de gestação e tiveram o fígado e o útero gravídico pesados. Os fetos foram avaliados por dessecação a fresco. Não foi realizada a avaliação de anomalias esqueléticas fetais.

Nos grupos expostos à 0, 0,75 e 3 mg/kg/dia foi observado 2, 7 e 4 mortes, respectivamente. Não foram observados sinais clínicos de toxicidade. O ganho médio de peso corporal materno foi drasticamente reduzido na dose de 3 mg/kg/dia. Nos grupos 0, 0,75 e 3 mg/kg/dia, 0, 2 e 12 mães abortaram, respectivamente. Houve aumento das perdas pós-implantação na maior dose. Nesta dose foi observado um aumento da incidência de fetos com hidrocefalia, quando comparado ao controle do estudo e ao controle histórico. A incidência dessas malformações está mostrada na Tabela 12. Os resultados indicam que o NOAEL é inferior à menor dose testada <0,75 mg/kg/dia (Kirk et al., 1987a *apud* JMPR, 2005; EPA, 2005).

Tabela 12: Incidência de malformações fetais (e nas ninhadas) em um estudo de toxicidade para o desenvolvimento em coelhos que receberam cihexatina via oral (gavagem)

Desfechos	Dose (mg/kg/dia)		
	0 (controle)	0,75 (menor dose)	3,0 (maior dose)
Nº fetos (ninhadas) examinadas	167 (21)	133 (16)	47 (7)
Malformados (total)	3 (3)	10 (7)	11 (5)
Fetos com hidrocefalia	2 (2)	7 (5)	9 (4)

3.6.10 Estudo do potencial embriotóxico em coelhos

Espécie: Coelhos New Zealand
Número de animais=15 -18 por grupo
Via: Oral (entubação gástrica – gavagem)
Doses: 0; 0,75; 1,5; 3,0 mg/kg/dia (TCTH-KY 161µm, TCTH-BV 38µm) e 3,0mg/kg/dia (TCTH-HP 27µm)
Duração do tratamento: GD 6-19
Dia da Cesárea: GD 29
Efeitos:
▪ KY – diminuição do peso materno (3,0 mg/kg);
▪ BV - diminuição do peso materno (0,75; 1,5 e 3,0 mg/kg);
▪ BV - aumento do nº de reabsorções e perdas pós-implantação (3,0 mg/kg);
▪ HP - diminuição do peso materno (3,0 mg/kg);
NOAEL:
KY - Materno = 1,5 mg/kg; Desenvolv. = 3,0 mg/kg;
BV - Materno =<0,75 mg/kg; Desenvolv. = 1,5 mg/kg
HP - Materno <3,0 mg/kg; Desenvolv. não determinado

O estudo foi realizado (em condições de observância das Boas Práticas de Laboratório) para comparar os três tipos de cihexatina: de alta pureza (lote 2186-44; 99,7% pura; tamanho médio da partícula = 27 µm), um material técnico não-micronizado dos EUA (batelada PCRCX-901K; 97% de pureza; tamanho

médio da partícula = 161 µm), e um material técnico micronizado da Holanda (lote 3527; 98% de pureza; tamanho médio da partícula = 38 µm). O material técnico foi suspenso em carboximetilcelulose 0,5% e administrado, por via oral, do dia 6 ao dia 19 de gestação a grupos de 15–18 coelhos. No caso dos dois materiais técnicos, as doses administradas foram 0, 0,75, 1,5 e 3,0 mg/kg/dia. A cihexatina de alta pureza foi administrada a grupos de 8 a 9 mães na dose de 3,0 mg/kg/dia em suspensão de carboximetilcelulose 0,5% ou Cremophor 1%. A cesárea ocorreu no dia 29 de gestação, os dados das ninhadas foram registrados e todos os fetos foram examinados quanto a anomalias viscerais. As cabeças de metade dos fetos foram examinadas por cortes seriados e a carcaça fetal restante (com ou sem as cabeças) foi processada para a avaliação de anomalias do esqueleto.

Aproximadamente, 4 mães de cada grupo, morreram antes do parto. Aumento do número de ninhadas abortadas, e diminuição do ganho corporal materno e da ingestão de alimentos, foram observados nos grupos que receberam cihexatina de alta pureza. O peso corporal materno e a ingestão de alimentos foram drasticamente reduzidos no grupo que recebeu a maior dose de cihexatina técnica micronizada. Uma mãe de cada grupo que recebeu 1,5 ou 3,0 mg/kg/dia abortou. A incidência de reabsorções por ninhada não foi afetada pelo tratamento. Foi observado um aumento - não dose-relacionado - da ocorrência de retinas levemente dobradas. Foi observada uma discreta dilatação dos ventrículos cerebrais em dois fetos de diferentes ninhadas na maior dose, e em um feto da dose intermediária. A incidência dessa anomalia, entretanto, manteve-se próxima à registrada no controle histórico. Nenhum feto do grupo controle do experimento ou da menor dose apresentou ventrículos dilatados. No grupo que recebeu cihexatina técnica micronizada, quatro mães da maior dose foram sacrificadas após perda acentuada de peso. O ganho de peso corporal e a ingestão de alimentos estavam diminuídos na maior dose e, em menor extensão, também na menor dose. Uma mãe exposta à menor dose, e duas expostas à maior dose abortaram. As perdas pós-implantação aumentaram na mães expostas à dose de 3,0mg/kg/dia.

Não foi possível identificar o NOAEL para a cihexatina de maior pureza e para a de menor tamanho de partículas.

O NOAEL da cihexatina técnica não micronizada foi fixado em 1,5 mg/kg/dia baseado na toxicidade materna.

O NOAEL da cihexatina técnica micronizada foi fixado em 1,5 mg/kg/dia baseado na toxicidade materna e **embriotoxicidade**, como indicado pelas **perdas pós-implantação** (Ross, 1990).

3.6.11 Estudo do potencial embriotóxico em coelhos

Espécie: Coelhos New Zealand

Número de animais= 24 ♀ por grupo

Via: oral (entubação gástrica - gavagem)

Doses: **1º fase:** 0; 0,5; 0,75 e 1,0 mg/kg/dia

2º fase: 0 e 3,0 mg/kg/dia

Duração do tratamento: GD 6-18

Dia da Cesárea: GD 29

NOAEL: 3,0 mg/kg

Este estudo foi realizado em duas fases e em condições de observância das Boas Práticas Laboratório (BPL). Na primeira fase, grupo de 24 fêmeas híbridas (Hy/Cr New Zealand White) grávidas receberam, por via oral, cihexatina (batelada 243; 96% de pureza, suspensa em carboximetilcelulose 0,5%) nas doses de 0, 0,5, 0,75 ou 1,0 mg/kg/peso corporal/dia. Na segunda fase, as fêmeas grávidas receberam 0 ou 3,0 mg/kg/peso corporal/dia. As mães foram submetidas à cesárea no dia 29 de gestação, o útero gravídico foi pesado e as ninhadas examinadas. As cabeças de metade dos fetos foram examinadas por cortes transversais e as carcaças restantes (sem cabeça) foram processadas para avaliação de anomalias esqueléticas.

Um pequeno número de animais de cada grupo morreu prematuramente. Não foram observadas alterações relacionadas ao tratamento do peso corporal materno, da ingestão de alimentos, do número de abortos, da incidência de reabsorções e perdas pós-implantação, do tamanho da ninhada, dos nascimentos prematuros ou do peso fetal. Foram encontrados fetos malformados (cabeça em forma de domo, **ventrículos cerebrais dilatados, e descolamento de retina**) nos grupos de 0,5, 0,75 ou 1 mg/kg/peso corporal/dia. Na maior dose (3 mg/kg/dia) um feto apresentou **hidrocefalia**.

O NOAEL foi a mais alta dose testada, 3,0 mg/kg/peso corporal/dia (Monnot, 1989a).

3.6.12 Estudo do potencial embriotóxico em coelhos

Espécie: Coelhos New Zealand
Número de animais= 16 ♀ por grupo
Via: transdérmica
Doses: 0; 0,5; 1,0; 3,0 mg/kg/dia
Duração do tratamento: GD 7-19
Dia da Cesárea: GD28

Efeitos: Sinais de irritação (eritema, edema, escaras, fissuras) no local da aplicação em todos os animais tratados; **Hidrocefalia** em 4 fetos (3 ninhadas) no grupo de 3,0 mg/kg.

NOAEL: 1,0 mg/kg/dia

Este estudo foi realizado em condições de observância das Boas Práticas de Laboratório. Grupos de 16 fêmeas grávidas (New Zealand White) foram expostas por via transdérmica (pele tricotomizada) à cihexatina suspensa em metocel 0,5% (lote AGR 213445; 95,5% de pureza) nas doses de 0, 0,5, 1,0 ou 3,0 mg/kg/dia nos dias 7 - 19 de gestação. No dia 28 de gestação foi realizada a cesárea, e o fígado e o útero gravídico foram pesados. Os fetos foram examinados por dissecação a fresco.

Não houve mortes maternas, nem evidências clínicas de toxicidade. Não foram notadas alterações do peso corporal, número de abortos, reabsorções das ninhadas, nascimentos prematuros ou do peso do fígado. Em todos os animais tratados foram observados sinais de irritação (incluindo eritema, escaras, edema e fissura) no local da aplicação. **Hidrocefalia foi achada em quatro fetos de três ninhadas na dose de 3 mg/kg/dia. Nos fetos do grupo controle e das outras doses não foi observada a ocorrência de hidrocefalia.** O NOAEL foi fixado em 1 mg/kg/dia baseado no aparecimento de **hidrocefalia** (Kirk et al., 1987b *apud* JMPR, 2005; EPA, 2005).

3.6.13 Estudo do potencial embriotóxico em coelhos

Espécie: Coelhos New Zealand ;
Número de animais= 24 ♀ por grupo
Via: transdérmica
Doses: 0; 0,5; 1,0; 3,0 mg/kg/dia
Duração: GD 6-18
Dia da Cesárea: GD29

Efeitos: Sinais de irritação (eritema, atonia e descamação) no local da aplicação em todas as doses; Irritação mais severas (fissura da pele) nas doses de 1,0 e 3,0 mg/kg;

NOAEL: 3,0 mg/kg

Grupos de 24 fêmeas grávidas (New Zealand White) receberam cihexatina (96% de pureza) suspensa em carboximetilcelulose 0,5% por via dérmica nas doses de 0, 0,5, 1,0 ou 3,0 mg/kg/dia, nos dias 6-18 de gestação. As mães foram mortas no dia 29 de gestação. Os fetos foram examinados para anomalias externas, viscerais e esqueléticas. Foram observadas reações na pele (eritema, atonia e descamação) no local da aplicação em todas as doses. As reações mais severas (rachaduras na pele) foram encontradas nas doses de 1 e 3 mg/kg/dia. Não foram constatadas mortes maternas, sinais clínicos de toxicidade, alterações de peso corporal, do consumo de ração, do peso do útero gravídico, da aparência externa dos ovários e úteros, do número de fetos, dos números de reabsorções precoces e tardias e de implantações totais, do número de corpos lúteos, do peso fetal, da razão sexual dos fetos, e da frequência de anomalias externas, viscerais e esqueléticas.

O NOAEL (excluindo a irritação dérmica) foi a maior dose testada, por exemplo, 3 mg/kg/dia (Monnot, 1989b).

3.6.13 Análise do conjunto de estudos sobre a toxicidade reprodutiva da cihexatina

Para verificar se a cihexatina apresenta problemas de palatabilidade a ponto de causar diminuição na ingestão de alimento e desnutrição materna, que poderiam ocasionar problemas de reprodução e malfomação embriofetal, foi realizado o estudo de toxicidade reprodutiva (item 3.6.1) conduzido por Barrow e colaboradores (1994). A análise dos dados brutos e do controle histórico desses animais mostrou que não houve redução estatisticamente significativa do peso corpóreo dos filhotes tratados com 30ppm da cihexatina micronizada, ou do grupo que recebeu dieta restrita, similar ao grupo tratado, quando comparados ao controle histórico. O estudo demonstrou que mesmo se a substância teste apresentar problemas de palatabilidade, essas características não são suficientes para levar a uma desnutrição dos filhotes ao ponto de causar outras anormalidades em função disso. Assim, todo e qualquer efeito visto nesse nível de dose deve ser relacionado a um efeito direto da cihexatina sobre a gestação e os filhotes.

Para reforçar ainda mais a não relevância da palatabilidade da substância, há pelo menos dois estudos (itens 3.6.4 e 3.6.5) em que a substância teste foi administrada em ratos por gavagem, em níveis de doses superiores aos testados no estudo 3.6.1 em que houve diminuição do peso materno mesmo sem ter ocorrido alteração no consumo de alimentos. Isso demonstra novamente que os efeitos tóxicos são decorrentes diretamente da ação da cihexatina sobre os animais testados, e não efeitos secundários de uma desnutrição materna em função da impalatabilidade da substância teste na dieta.

O estudo reprodutivo (item 3.6.3) conduzido por Barrow e colaboradores (1987), por sua vez, analisou em duas gerações de filhotes os possíveis efeitos reprodutivos da cihexatina. Foram utilizadas as doses 0, 10, 30 e 100ppm, de uma cihexatina micronizada, que conforme já discutido no item sobre toxicocinética, pode aumentar a absorção da substância pronunciando os efeitos potenciais da mesma. Vários efeitos reprodutivos foram relatados nos grupos testados como, por exemplo, redução na média do número de sítios de implantação (animais da geração F0 e F1), do número de corpos lúteos (geração F1), do tamanho da ninhada (gerações F0 e F1) e retardo no tempo médio de abertura dos olhos dos filhotes. Tais efeitos, conforme já esclarecidos por meio do estudo específico em que se demonstrou que não houve influência da restrição da dieta no peso dos filhotes (item 3.6.1), devem ser atribuídos a um efeito direto da cihexatina sobre os animais, demonstrando seus efeitos sobre a reprodução e ninhada.

O estudo reprodutivo (item 3.6.2), conduzido por Breslin e colaboradores (1987), não demonstrou tais efeitos. Contudo isso pode ter ocorrido uma vez que não apresenta doses intermediárias entre as doses de 0,5 e 6mg/kg/dia, nas quais foram observados os efeitos sobre o desenvolvimento embriofetal descritos anteriormente (NOAEL variou entre 0,5 a 0,75mg/kg/dia). No entanto, é válido ressaltar que a maior dose, de 6mg/kg, demonstrou efeitos de hiperplasia de ducto biliar que são também observados nos estudos crônicos/carcinogenicidade.

Em relação aos estudos de desenvolvimento, foram descritos 10 estudos (3 em ratos e 7 em coelhos) para avaliar esse *endpoint*, sendo que um não seguiu os protocolos reconhecidos internacionalmente, em relação à data de sacrifício dos animais testados. No entanto, mesmo com o sacrifício precoce já houve efeitos tóxicos maternos, como a diminuição do peso corpóreo. Como já mencionado, por ter sido gavagem a forma de administração da cihexatina, a palatabilidade não está relacionada a essa redução do peso. Um estudo bastante semelhante feito em 1986 por Shardein (item 3.6.5), em ratos, pela via oral (gavagem), mas seguindo os protocolos internacionalmente aceitos, reforça esse achado, com redução do peso materno, bem como aumento do peso relativo do fígado, indicando toxicidade materna por efeito direto da cihexatina.

Um último estudo de desenvolvimento em ratos (item 3.6.6), pela via oral (gavagem), utilizando exatamente as mesmas doses do estudo anterior (item 3.6.5), relata o aparecimento de malformações fetais em todas as doses dos grupos tratados, tais como microftalmia, fusões dos ossos do crânio, fenda palatina, fenda labial e alterações nas vértebras pré-sacrais. Ressalta-se que a microftalmia não foi encontrada no controle histórico do laboratório e ainda que a alteração das vértebras pré-sacrais ocorreu em 6 fetos de 6 ninhadas.

Em relação aos coelhos expostos à cihexatina o achado mais comum, repetido em diversos estudos, por diferentes vias (oral-gavagem e dérmica) foi a hidrocefalia. No estudo de Shardein (1986b), mencionado no item 3.6.8, foram observados efeitos a partir da dose de 1mg/kg/dia, como perdas pós-implantação, e na dose de 3mg/kg/dia abortos, reabsorção total da ninhada, e hidrocefalia e *dome-shaped head* (cabeça em forma de "abóbada", considerado um efeito raro), sem evidência de toxicidade materna.

O estudo de Kirk e colaboradores (1987) relatado no item 3.6.9, com a dose de 0,75mg/kg/dia (intermediária às doses de 0,5 e 1mg/kg/dia do estudo 3.6.8) demonstrou hidrocefalia em todas as doses, com relação dose resposta. Nesse nível de dose não houve toxicidade materna corroborando com os achados do estudo 3.6.8 e, portanto, a hidrocefalia foi um efeito direto da cihexatina sobre o embrião.

O estudo de Ross (1990), mencionado no item 3.6.10, foi fundamental para entender a influência do tamanho de partícula nos efeitos tóxicos da cihexatina. Três amostras com tamanhos de partículas distintos foram testadas, 161, 38 e 27µm. O estudo revelou que o NOAEL possui valores diretamente proporcionais ao tamanho da partícula, ou seja, quanto menor o tamanho da partícula, menor o valor do NOAEL, reforçando os achados dos estudos de toxicocinética. O representante legal do SINDAG informou durante a reunião de reavaliação do ingrediente ativo cihexatina que existem formulações micronizadas com registro no Brasil.

Corroborando com os achados dos estudos 3.6.8 e 3.6.9, o estudo 3.6.11 também relata o aparecimento de fetos malformados em todas as doses, como hidrocefalia e *dome-shaped head* (evento considerado raro).

Por último, ainda em coelhos, mas pela via dérmica, via distinta das relatadas, há pelo menos um estudo que novamente descreve a ocorrência de hidrocefalia, em dose de 3mg/kg/dia, sem mortalidade ou toxicidade materna, o que reforça o efeito direto a cihexatina sobre o embrião.

Além desses achados de malformação tanto em ratos como coelhos (pela via oral e dermal) relacionados à cihexatina, há inúmeros outros estudos que reforçam a relação desse grupo químico com efeitos embriofetotóxicos. Dentre eles, podemos citar um estudo em camundongos feito com trifetilhidróxido de estanho (Sarpa et al., 2007), assim como a cihexatina um triorganoestanhoso, que revelou efeitos teratogênicos claros, tais como fenda palatina e outros efeitos sobre o sistema reprodutivo, corroborando com os achados já relatados.

A análise deste amplo conjunto de estudos experimentais mostrou que a cihexatina apresenta **potente efeito tóxico sobre a reprodução** em duas espécies ratos e coelhos, sendo que nesta última, tal efeito ocorre inclusive **por diferentes vias de administração**: oral e dérmica.

Os estudos de toxicidade para o desenvolvimento (potencial embriotóxico) revelaram que a cihexatina é tóxica para o organismo materno e induz perdas gestacionais (**embrioletalidade**) em doses muito baixas. Além disso, foram encontradas em vários estudos em ratos e coelhos evidências de **teratogenicidade**, com o aparecimento consistente de uma maior incidência de **malformações do cérebro** (hidrocefalia) nesta última espécie, por **diferentes vias de administração** (via oral, importante para a exposição dietética e via dérmica, para exposição ocupacional).

O potente efeito embrioletal e as evidências de teratogenicidade sugerem que a cihexatina não é segura, podendo afetar adversamente o desenvolvimento do embrião e causar perdas gestacionais (abortamentos) e malformações.

4. Recomendações

A toxicidade aguda da cihexatina é extremamente acentuada, sendo enquadrada na Classe I – Extremamente Tóxica (Brasil, 1992). A cihexatina, tal como outros compostos organoestanhosos, mostrou ser um potente irritante para a pele, para as vias aéreas e para os olhos (causando opacidade de córnea irreversível).

Nos estudos com exposições repetidas o NOAEL foi de 0,68 mg/kg/dia, estabelecido em função das alterações hepáticas e hematológicas significativas, independente da via de administração utilizada.

A toxicidade genética da cihexatina foi investigada por um abrangente conjunto de estudos *in vitro* e *in vivo* cujos resultados sugeriram que este composto organo-estanhoso não é genotóxico. Os estudos a longo prazo também não evidenciaram claramente potencial carcinogênico.

A cihexatina apresenta **potente efeito tóxico sobre a reprodução** em duas espécies ratos e coelhos, sendo que nesta última, tal efeito ocorre inclusive **por diferentes vias de administração**: oral e dérmica.

Os estudos mostraram que a cihexatina apresenta elevada toxicidade materna e acentuada embriotoxicidade. Em doses muito baixas a cihexatina causou perdas gestacionais (efeito embrioletal) em ratos e coelhos e, nessa última espécie, foram relatadas evidências consistentes de malformação cerebral (como por exemplo, a hidrocefalia).

No cenário internacional, pelos conhecidos riscos para a saúde humana e para o meio ambiente, a cihexatina e outros compostos triorganoestanhosos tem sido banidos ou alvo de severas restrições na maioria dos países (Anexo I).

Atualmente, há 7 produtos registrados no Brasil, sendo 3 produtos técnicos e 4 produtos formulados a base de cihexatina (Anexo II). Ainda, ressalta-se que existem inúmeros produtos alternativos para todos os alvos biológicos e culturas hoje registrados para cihexatina (Anexo III).

Em virtude da toxicidade aguda **extremamente elevada**, da **acentuada toxicidade reprodutiva**, da **toxicidade para o desenvolvimento** e das **evidências de teratogenicidade**, recomendamos o

cancelamento de todos os Informes de Avaliação Toxicológica de produtos técnicos e formulados a base de cihexatina com vistas ao cancelamento do registro dos mesmos, bem como a não concessão de novos registros de produtos a base desse ingrediente ativo no Brasil.

5. Referências bibliográficas

Aldridge, D., Schwartz C.A., Keller, K.A. & Schardein, J.L. (1986) Cyhexatin -Oral teratology study in Sprague-Dawley rats (with appendix tables) Relatório não publicado No. 133-048 do International Research and Development Corporation (IDRC). Submetido à WHO pela Dow Chemical Co., Midland, Michigan, USA.

Barrow, P.C (1994a) One generation oral (dietary admixture) reproduction toxicity study in the rat with peer-feeding. Relatório não publicado No. IIA/5.6.1/03 da Hazleton, France. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. 827/027.

Barrow, P.C (1994b) Two generation oral (dietary admixture) reproduction toxicity study in the rat. Relatório não publicado No. IIA/5.6.1/02 da Hazleton. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. 396039RE.

Barrow, P.C (1994c) Cyhexatin - oral (gavage) teratology study in the rabbit. Relatório não publicado No. IIA / 5.6.2/06 da Pharmakon, France. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. 805940RE.

Barrow, P.C. (1991a). Cyhexatin - Preliminary proof of absorption investigation in the rat by the oral route. Relatório não publicado pela Hazleton, France, Submetido a WHO pela Oxam, Italia.

Barrow, P.C. (1991b). Cyhexatin technical - Pharmacokinetic investigation in the rabbit by the oral route. Relatório não publicado pela Hazleton, France, Submetido a WHO pela Oxam Italia.

Barrow, P.C. (1991c). Cyhexatin technical - Pharmacokinetic investigation in the rat by the oral route. Relatório não publicado pela Hazleton, France, Submetido a WHO pela Oxam Italia.

Barrow, P.C. (1991e). Cyhexatin technical - Pharmacokinetic investigation in the rabbit by the percutaneous route. Relatório não publicado pela Hazleton, France, Submetido a WHO pela Oxam Italia.

Barrow, P.C. (1991f). Cyhexatin micronized - Pharmacokinetic investigation in the rabbit by the percutaneous route. Relatório não publicado pela Hazleton, France, Submetido a WHO pela Oxam Italia.

Barrow, P.C. (1991g). Cyhexatin micronized Pharmacokinetic investigation in the rabbit by the oral route. Relatório não publicado pela Hazleton, France, Submetido a WHO pela Oxam Italia.

Berdasco, N.M., Johnson, K.A., Wolfe, E.L. & Hanley, T.R. Jr (1986) Cyhexatin: Oral teratology probe study in New Zealand white rabbit. Relatório não publicado No. IIA/5.6.2/02 da Dow Chemical, USA. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. K-053361-031.

BRASIL, Portaria nº 03 de 16 de janeiro de 1992, Presidência da República, DOU -Diário Oficial da União.

Breslin, W.J., Berdasco, N.M., Keyes, D.G. & Kociba, R.J (1987) Cyhexatin: two-generation dietary reproduction study in Sprague-Dawley rats. Relatório não publicado No. IIA/5.6.1/01 por Dow Chemical. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. K-053361-038.

Bruce, R.J., Bhasker, Gollapudi B. & Wilkerson, J.E (1985) Evaluation of cyhexatin in the mouse bone marrow micronucleus test. Unpublished report No. IIA/5.4.2/02 from Dow Chemical, USA. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. TXT:K-053361-0265.

Caldwell, E (2001) 14C-Cyhexatin: biliary excretion in rats. Relatório não publicado No. IIA/5.1/04 from HLS. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. CTF/014.

Corley, R.A. & Johnson, K.A (1986) Cyhexatin: 21-day dermal toxicity study in rabbits. Relatório não publicado No. IIA/5.3.3/02 da Dow Chemical Company. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report

Cracknell, S (1993) Cyhexatin technical: Acute inhalation toxicity study in the rat. Relatório não publicado No.IIA / 5.2.3/02 da Pharmaco-LSR Ltd. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 92/EHG007/1074.

Denton, S.M (1983a) Cyhexatin technical - Acute oral toxicity to the rat. Relatório não publicado No.IIA/5.2.1/01 from Huntingdon Research Centre. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. OXN 15/930151/AC.

Denton, S.M (1983b) Cyhexatin micronised - Acute oral toxicity to the rat. Relatório não publicado No.IIA/5.2.1/02 from Huntingdon Research Centre. Submetido a WHO pela Oxon Italia SpA. Report No.OXN 15/930150/AC.

Dickhaus, S. & Heisler, E (1981a) Irritant effects of cyhexatin technical on rabbit skin. Relatório não publicado No. IIA/5.2.4/01 da Pharmatox. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 1-3-354-80.

Dickhaus, S. & Heisler, E (1981b) Irritant effects of cyhexatin technical on rabbit eye. Relatório não publicado No. IIA/5.2.5/02 da Pharmatox. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 1-3-355-80.

Dickhaus, S. & Heisler, E (1981c) Three months subacute toxicity. cyhexatin technical as feeding study in the species rat. Relatório não publicado No. IIA/5.3.2/01 da Pharmatox. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 2-4-356-80.

Dickhaus, S. & Heisler, E (1982) Acute toxicological study of cyhexatin (technical) after dermal application to the rat. Relatório não publicado No. IIA/5.2.2/01 da Pharmatox. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 1-4-155-82.

Eisenlord, G., Loquvam, G.S. & Nemenzo, J (1970b) Results of two-year dietary feeding study with tricyclohexyltin hydroxide (Dowco 213) in rats. Unpublished report No. IIA/5.5.1/01 from The Hine Laboratories. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. not stated (electronic file AIIP5.5.1-01).

Fait, A., Ferioli, A., Barbieri, F., 1994. Organotin compounds. *Toxicology*, **91**: 77-82.

Fent, K., 1996. Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit Rev Toxicology*, **26**: 1-117.

Frieling, W (2003) Absorption, Distribution, Metabolism and excretion of 14C-Cyhexatin in the Wistar rat (OECD 417). Relatório não publicado No. IIA/5.1/03 da NOTOX. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 333912.

Grilli, S.; Ancora, G.; Rani, P.; Valenti, A.M.; Mazzullo, M.; Colacci, A. In vivo unwinding fluorimetric assay as evidence of the damage induced by fenarimol and DNOC in rat liver DNA. *J.Toxicol. Environ. Health*, **34**(4): 485-494, 1991.

Grissom, R.E., Jr, Brownie, C. and Guthrie, F.E (1985) Dermal absorption of pesticides in mice. *Pestic.Biochem. Physiol.*, **24**, 119-123. in JMPR, 2005

Grissom, R.E., Jr, Brownie, C. e Guthrie, F.E (1985) Dermal absorption of pesticides in mice. *Pestic.Biochem. Physiol.*, **24**, 119-123.

Guard, H. E., Cobet, A. B. and Coleman, W. M., 1981. Methylation of trimethyltin compounds by estuarine sediments. *Science*, **213**: 770-771.

Hrelia, P.; Vigagni, F.; Morotti, M.; Colacci, A. Perocco, P.; Grilli, S.; Cantelli-Forti, G. Genetic safety evaluation of pesticides in different short-term tests. *Mutation Research*, **321**(4): 219-228, 1994.

IPCS - JOINT MEETING ON PESTICIDE RESIDUES (JMPR): Cihexatin, 2005.

Jeffrey, M.M., Schuetz, D.J. & Johnson K.A (1986) Tricyclohexylhydroxystannane (technical): acute dermal rabbit toxicity study in New Zealand White Rabbits. Relatório não publicado No. IIA/5.2.2/02 da Dow Chemical Company. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No.

Jones, J.R (1984) Plictran technical: Delayed contact hypersensitivity study in the guinea pig (Buehler test). Relatório não publicado No. IIA/5.2.6/01 da Hazleton Laboratories Europe. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 4215-50/373

Kennelly, J.C. & Kirkland, D.J.(1985) Plictran Technical: Cytogenetic studies in cultures Chinese hamster ovary (CHO) cells. Unpublished report No. IIA/5.4.1/03 from Microtest Research Limited, UK. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. DCE 2/CHO 1 & 2/AR/KF14.

Keyes, D.G., Kociba, R.J., Scheutz, D.J., Morden, D.C., Wade, C.E., Park, C.N., Hermann, E.A. & Gorzinski, S.J (1981) Cyhexatin : results of a two-year dietary toxicity and oncogenic study in male and female B6C3F1 mice. Unpublished report No. IIA/5.5.2/01 from Dow Chemical Company. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. K-53361-16.

Kimmel, E.C., Casida, J.E. & Fish, R.H (1979) Bioorganotin chemistry. Microsomal monooxygenase and mammalian metabolism of cyclohexyltin compounds including the miticide cyhexatin. J. Agric. Food Chem., 28, 117–122. Submetido a WHO.

Kirk, H.D., Johnson, K.A., Hanley & T.R.Jr (1987a) Cyhexatin: oral teratology study in New Zealand White rabbits. Relatório não publicado No. IIA/5.6.2/03 da Dow Chemical, USA. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. K-053361- 41.

Kirk, H.D., Johnson, K.A., Hanley & T.R.Jr (1987b) Cyhexatin: dermal teratology study in New Zealand White rabbits. Relatório não publicado No. IIA/5.8.2/09 from Dow Chemical, USA. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. K-053361-044.

Lindberg, D.C., Keplinger, M.L., Fancher, O.E. & Calandra, J.C (1977) Ninety day subacute oral toxicity study of tricyclohexyl-tin hydroxide in beagle dogs. Relatório não publicado No. IIA/5.3.2/03 da Industrial Bio-test Laboratories. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. C8381.

Longobardi, C (1994a) Acute oral toxicity in albino rats. Relatório não publicado No. 271-010/T/140/93 do Research Toxicology Centre SpA, Pomezia, Italy. Submetido a WHO em 1994 pela Chemia SpA, Ferrara, Italy.

Longobardi, C (1994b) Acute oral toxicity in the albino rats. Relatório não publicado No. 271-011/T/129/93 do Research Toxicology Centre SpA, Pomezia, Italy. Submetido a WHO em 1994 pela Chemia SpA, Ferrara, Italy.

McCollister, S.B., Wade, C.E., Morden, D.C., Dittenberg, D.A., Kalnins, R.V., Scheutz D., Blogg, C.D. & Gorzinski, S.J (1980) Cyhexatin. Results of a 13-week toxicity study in the diet of B6C3F1 mice. Relatório não publicado No. IIA/5.3.2/02 da Dow Chemical Company. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. K-053361-(14).

McDonald, P (1989) Cyhexatin technical. Acute inhalation toxicity study in rats. Relatório não publicado No. IIA/5.2.3/01 da Inveresk Research International. Submetido a WHO pela Oxon Italia SpA. Report No. 3846.

Mendrala, A.L (1985a) Evaluation of tricyclohexylhydroxy stannane in the Ames test *Salmonella*/mammalian microsomal mutagenicity assay. Unpublished report No. IIA/5.4.1/01 from Dow Chemical Company. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. HET K-053361-022.186

Mendrala, A.L (1985b) Evaluation of tricyclohexylhydroxy stannane in the rat hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay. Unpublished report No. IIA/5.4.1/06 from Dow Chemical Company. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. HET K-053361-023.

Mendrala, A.L (1986) The evaluation of tricyclohexylhydroxy stannane in the Chinese hamster ovary cell/hypoxanthine (guanine) phosphoribosyl transferase [CHO/HGPRT] mutation assay. Unpublished report No. IIA/5.4.1/05 from Dow Chemical Company. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. not stated (electronic file AII/P5.4.1-05).

Mertens, J.J.W.M (2000) A 28-day oral (dietary) dose range-finding toxicity study of cyhexatin in rats. Relatório não publicado No IIA/5.3.1/01 do WIL Research laboratories. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. WIL-364001.

Mertens, J (2004) A 24-month dietary combined chronic/carcinogenicity study with an add-on-90-day neurotoxicity segment of cyhexatin in rats. Unpublished report No. IIA/5.5.1/03 from WIL Research Laboratories Inc. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. WIL-364002.

Monnot, G (1989a) Cyhexatin. Teratology study by oral route in the rabbit. Relatório não publicado No. IIA/5.6.2/07 da Hazleton, France. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. 220088-D.

Monnot, G (1989b) Cyhexatin. Teratology study by percutaneous route in the rabbit. Relatório não publicado No. IIA/5.8.2/10 da Pharmakon Europe. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. 221088RE.

Nistchke, K.D., Lomax, L.G. & Phillips, J.E (1987) Cyhexatin. Acute aerosol study with Fischer 344 rats. Relatório não publicado No. IIA/5.2.3/03 da Dow Chemical Company. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. K-053361-043.

PEST MANAGEMENT REGULATORY AGENCY HEALTH CANADA. *Cyhexatin Decision Document-E89-01*, 2005.

Quinto, I.; Martire, G.; Vricella, G.; Riccardi, F.; Perfumo, A.; Giulivo, R.; De Lorenzo, F. Screening of 24 pesticides by Salmonella/microsome assay: mutagenicity of benazolin, metoxuron and paraoxon. *Mutation Research*, **85**(4): 265, 1981.

Rampy, L.W. & Keller, P.A (1973) Acute eye irritation studies conducted on trichlohexyltin hydroxide. Relatório não publicado No. IIA/5.2.5/01 da Dow Chemical Company. Submetido a WHO pela Elf Atochem Agri. Ross, F.W (1990)

Ross, F.W (1990) Tricyclohexyltin hydroxide: teratology study in the rabbit. Relatório não publicado No. IA/5.6.2/05 da Life Science Research, UK. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. 89/MTC010/0161.

Salmona, M. & Gagliardi L (1991a) Pharmacokinetics in the rat: acute studies. Relatório não publicado No. IIA/5.1/16. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA.

Salmona, M. & Gagliardi, L. (1991b). Appraisal of the analytical determinations anonymously reported, obtained from the in-life portion of the study relatado por Woehrle, submetido pela Oxam Italia.

Sarpa, M., De-Carvalho R.R., Delgado, I.F., Paumgarten, F.J. (2007). Developmental toxicity of triphenyltin hydroxide in mice. *Regul Toxicol Pharmacol*, **49**(1): 43-52.

Schardein, J. (1986). Cyhexatin: Teratology study in rats: Laboratory Project Identification 133-048. Relatório não publicado preparado por International Research and Development Corp.

Schardein, J.L (1986) Cyhexatin: teratology study in rabbits. Relatório não publicado No. IIA/5.6.2/04 da IRDC, USA. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. 133-049.

Scortichini, B.H., Wolfe, E.L, Yano, B.L. & Hanley T.R (1986) Cyhexatin: oral teratology probe study in Sprague-Dawley rats. Relatório não publicado No. IIA/5.6.2/01 da Dow Chemical, USA. Submetido à WHO por Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Relatório No. HET K-53361-32.

Shiram Institute for Industrial Research (1986) Subacute inhalation toxicity study of Plictran (cyhexatin) technical in Wistar rats (14 days nose only inhalation exposures). Relatório não publicado No. IIA/5.3.3/01 do Shiram Institute for Industrial Research. Submetido a WHO pela Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. 30824.

Stankowski, L.F (1997b) *In vivo* micronucleus test with cyhexatin in mouse bone marrow erythropoietic cells. Unpublished report No. IIA/5.4.2/01 from Pharmakon USA. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. PH 309-ANA-001-95.

Stankowski, L.F. (1996) Ames/*Salmonella-E. coli* reverse mutation assay on cyhexatin. Unpublished report No. IIA/5.4.1/02 from Pharmakon USA. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA. Report No. PH 301-ANA-001-95.

US-EPA (CANCER ASSESSMENT REVIEW COMMITTEE HEALTH EFFECTS DIVISION OFFICE OF PESTICIDE PROGRAMS). Cancer Assessment Document: Evaluation of the Carcinogenic Potential of Cyhexatin, 2005.

US-EPA. Cyhexatin: Revised Toxicology Disciplinary Chapter for the Registration Eligibility Decision Document, 2005.

Warner, S.D., Ayers, K.M., Gerbig, C.G. & Strebing, R.J (1977) Results of a two-year chronic toxicity study of tricyclohexyltin hydroxide administered to rats by the dietary route. Unpublished report No. IIA/5.5.1/02 from Dow Chemical Company. Submitted to WHO by Cerexagri SA, Oxon Italia SpA.

Woehrle, F. (1991a). Cyhexatin micronized - Pharmacokinetic investigation in the rabbit by the intravenous route. Relatório não publicado pela Hazleton, France, Submetido a WHO pela Oxam Italia.

Woehrle, F. (1991b). Cyhexatin micronized-Pharmacokinetic investigation in the rat by the intravenous route. Relatório não publicado pela Hazleton France, Submetido a WHO pela Oxam Italia.

6. Anexos

Anexo I: Situação Internacional do registro dos produtos a base de cihexatina

País	Situação
Austrália	Registro Cancelado
Áustria	Banido
Belize	Banido
Canadá	Banido
Estados Unidos	Banido, restrição severa para importação de produtos cítricos processados
China	Banido
Filipinas	Registro Cancelado
Japão	Banido
Kuwait	Banido
Líbia	Registro Cancelado
Laos	Banido
Nova Zelândia	Registro Cancelado
Paquistão	Banido
Reino Unido	Banido
Sweden	Banido
Tailândia	Banido
União Européia	Cancelado do Anexo I

Anexo II: Produtos técnicos (PT) e formulados (PF) a base de cihexatina, que apresentam registro hoje no Brasil.

Marca Comercial	Titular do Registro	Tipo de Produto	Número do Registro	Culturas
Cyhexatin Técnico Oxon	Sipcam Isagro Brasil S.	PT	01258901	Não se aplica (PT)
Cyhexatin Técnico Chemia	Chemia do Brasil, Com. Import. e Export. Ltda	PT	09806	Não se aplica (PT)
Cyhexatin Técnico Quiminas	Sipcam Isagro Brasil S.A.	PT	05990	Não se aplica (PT)
Acarstin	Sipcam Isagro Brasil S.A.	PF	01203	Citros
Acarmate	Sipcam Isagro Brasil S.A.	PF	04699	Citros
Sipcatin 500 SC	Sipcam Isagro Brasil S.A.	PF	12489	Citros, café e maçã.
Hokko Cyhexatin 500	Arysta Lifescience do Brasil Indústria Química e Agropecuária	PF	1378902	Citros, berinjela, morango, maçã e pêssego.

Anexo III: Ingredientes Ativos que possuem a mesma indicação de uso da Cihexatina

Culturas	Praga	Ingrediente Ativo	Grupo Químico
Citrus	<i>Brevipalpus phoenicis</i> (Ácaro da leprose)	Propargito Bifentrina Etoxazol Azociclotina Dicofol + Tetradifona Flufenoxurom Clorfenapir Enxofre Fenpropatrina Dicofol Espirodiclofeno Hexitiazoxi Óxido de Fembutatina Óleo mineral Dinocape Fenpiroximato Quinometionato Bromopropilato Amitraz Acrinatrina Piradabem Hexitiazoxi Tetradifona	Sulfito de alquila Piretróide Difenil oxazolina Organoestânico Organoclorado + Clorodifenilsulfona Benzoiluréia Análogo de pirazol Inorgânico Piretróide Organoclorado Cetoenol Tiazolidinacarboxamida Organoestânico Hidrocarboneto alifáticos Dinitrofenol Pirazol Quinoxalina Benzilato Bis(arilformamidina) Piretróide Piridazinona Tiazolidinacarboxamida Clorodifenilsulfona
Citrus	<i>Phyllocoptruta oleivora</i> (Falsa ferrugem – ácaro da mulata)	Abamectina Propargito Dimetoato Buprofezina Azociclotina Dicofol + Tetradifona Flufenoxurom Cromafenzida Clorfenapir Enxofre Cloridrato de formetanato Dicofol Mancozebe Espirodiclofeno Etiona Óxido de Fembutatina Óleo mineral Fenpiroximato Carbosulfano Lufenurom Diflubenzurom Famoxadona + Mancozebe Milbemectina Quinometionato Bromopropilato Piridafentiona Amitraz Piradabem Tetradifona Aldicarbe	Avermectina Sulfito de alquila Organofosforado Tiadiazinona Organoestânico Organoclorado + Clorodifenilsulfona Benzoiluréia Diacilhidrazina Análogo de pirazol Inorgânico Metilcarbamato de fenila Organoclorado Alquilenobis(ditiocarbamato) Cetoenol Organofosforado Organoestânico Hidrocarbonetos alifáticos Pirazol Metilcarbamato de benzofuranila Benzoiluréia Benzoiluréia Oxizolidinadiona Alquilenobis(ditiocarbamato) Milbemicinas Quinoxalina Benzilato Organofosforado Bis(arilformamidina) Piridazinona Clorodifenilsulfona Metilcarbamato de oxima
Citrus	<i>Panonychus citri</i> (Ácaro purpúreo)	Bifentrina Dicofol Dimetoato Espirodiclofeno Etiona Óxido de fembutatina Quinometionato Propargito Azociclotina Bifentrina	Piretróide Organoclorado Organofosforado Cetoenol Organofosforado Organoestânico Quinoxalina Sulfito de Alquila Organoestânico Piretróide
Berinjela	<i>Tetranychus urticae</i> (Ácaro rajado)	Dimetoato Tetradifona	Organofosforado Clorodifenilsulfona

Café	<i>Brevipalpus phoenicis</i> (Ácaro da leprose)	Azociclotina Espiroadiclofeno Fenpropratrina Hexitiazoxi Abamectina	Organoestânico Cetoenol Piretróide Tiazolidinacarboxamida Avermectina
Maçã	<i>Panonychus ulmi</i> (Ácaro da madeira e ácaro vermelho europeu)	Abamectina Clofentezina Propargito Óleo mineral Azociclotina Flufenoxurom Fenpropratrina Dicofol Espiroadiclofeno Fluazinam Dinocape Fenpiroximato Amitraz Piradabem Enxofre	Avermectina Tetrazina Sulfito de Alquila Hidrocarbonetos alifáticos Organoestânico Benzoiluréia Piretróide Organoclorado Cetoenol Fenilpiridinilamina Dinitrofenol Pirazol Bis(arilformamidina) Piridazinona Inorgânico
Morango	<i>Tetranychus urticae</i> (Ácaro rajado)	Abamectina Clofentezina Fenpropratrina Propargito Fenpiroximato Mevinfós Enxofre	Avermectina Tetrazina Piretróide Sulfito de Alquila Pirazol Organofosforado Inorgânico
Pêssego	<i>Tetranychus urticae</i> (Ácaro rajado)	Enxofre Abamectina	Inorgânico Avermectina

7. Glossário de termos, siglas e abreviaturas

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância sanitária

ASC: Área sob a curva

BPL (GLP): Boas práticas de laboratório (“*good laboratory practices*”)

CARC/US-EPA: *Cancer Assessment Review Committee of the Health Effects Division of the Office of Pesticide Programs*

CL₅₀: Concentração letal 50%

C_{max}: Concentração máxima

DCTO: Óxido de Diciclohexilestanho

DL₅₀: dose letal 50%

DP: Desvio padrão da média

GD: Dia de gestação (*Gestational day*)

HGPRT: Gene Hipoxantina-Guanina-Fosforribosil Transferase

HPLC: Cromatografia Líquida de Alta Performance (*High Performance Liquid Chromatography*)

IA: Ingrediente ativo de agrotóxicos (pesticidas)

IDA (ADI): Ingestão diária (máxima) aceitável (“*acceptable daily intake*”)

IPCS: *International Programme on Chemical Safety*

JMPR: *Joint Meeting on Pesticides Residues*

K: constante de eliminação

LC-MS: Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massas (*Liquid chromatography-mass spectrometry*)

LMR: Limite máximo de resíduos

LOAEL: menor nível em que se observou efeito adverso (“*lowest observed adverse effect level*”)

MCTA: Ácido Monohexilestânico

NOAEL: maior nível em que não se observou efeito adverso (“*no observed adverse effect level*”)

NOEL: maior nível em que não se observou efeito (“*lowest observed effect level*”)

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development

ppm: parte por milhão (concentração)

S9: Sistema de Ativação Metabólica

t_{1/2}: meia-vida de eliminação (tempo para concentração cair à metade durante a eliminação)

TBT: Tributilestanho (*Tributyltin*)

T_{max}: tempo (latência) para alcançar concentração máxima

TPT: Trifenilestanho (*Triphenyltin*)

US EPA: Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (“*US Environmental Protection Agency*”)

Vd: Volume aparente de distribuição

XPRT: Gene Xantina-Guanina-Fosforribosil Transferase