

## EVALUACIÓN DEL IFOPOL<sup>s</sup> MEDIANTE MÉTODO DE LAS CLASES DE TOXICIDAD Y TOXICIDAD AGUDA DÉRMICA

María Elena Arteaga\*, E.L. Ramos\*\*, A. Mancebo\*, Consuelo González\*, Ana M. Bada\*  
y Bárbara O. González\*

\*Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, División de Toxicología y Experimentación Animal. Finca Tirabeque, Carretera del Cacahual Km 2 ½, Bejucal, La Habana. Cuba;

\*\*Instituto Cubano de Investigaciones Azucareras (ICINAZ). Carretera al Central Manuel Martínez Prieto Km 2½, Boyeros, Ciudad Habana, Cuba. Dirección: Rpto. La Unión, Calle 3<sup>ra</sup>, Edif. 11, Apto. 10. Santiago de las Vegas. C. de la Habana. Correo electrónico: melena@cenpalab.inf.cu

**RESUMEN:** Se evaluó al IFOPOL<sup>s</sup> mediante el Método de las Clases de Toxicidad Aguda y el Ensayo de Toxicidad Aguda Dérmica. En la evaluación del Método de Clases de Toxicidad Aguda se utilizaron 6 ratas hembras Censp:SPRD, mantenidas con una dieta de pienso granulada (AlyCoÓ, CENPALAB) EMO:1004 y agua, ambos fueron esterilizados y suministrados a libertad; excepto 12 horas antes a la administración de la sustancia, que se mantuvieron en ayuno, a los que se le aplicó una dosis única de 2000 mg/Kg de PC del IFOPOL<sup>s</sup>, por vía oral. En la determinación de la Toxicidad Aguda Dérmica se utilizaron 10 conejos Censp: NZW (5 hembras y 5 machos), mantenidos con una dieta de pienso granulada CMO: 1400 y agua estéril, ambos suministrados a libertad, siendo administrados en la dosis de 2000 mg/kg. El período de observación en ambos ensayos fue de 14 días, en el cual se midieron las condiciones ambientales diariamente, la aparición de signos de toxicidad y muerte, peso corporal en los días 0, 7 y 14 del ensayo; en los conejos las observaciones incluyeron cambios en piel (signos de irritación). Los resultados evidenciaron que el IFOPOL<sup>s</sup> no ocasionó muertes, ni signos de toxicidad en los animales, quienes mantuvieron en ambos ensayos una curva de peso en incremento. No se evidenciaron alteraciones macroscópicas en la piel de los conejos, así como en cavidades y órganos. Mediante el Método de las Clases de Toxicidad Aguda, el IFOPOL<sup>s</sup> es no clasificado y en la dosis de 2000 mg/kg de PC no ocasionó toxicidad en el ensayo de Toxicidad Aguda Dérmica en conejos Censp: NZW.

(Palabras clave: Clases de Toxicidad; Aguda Dérmica; ratas; conejos; IFOPOL<sup>s</sup>)

---

## EVALUATION OF IFOPOL<sup>s</sup> BY MEANS OF THE DERMAL ACUTE TOXICITY CLASS METHOD

**ABSTRACT:** IFOPOL<sup>s</sup> was evaluated by means of the Acute Toxicity Class Method and the Dermal Acute Toxicity Assay. In the Acute Toxicity Class Method, 6 female Censp: SPRD rats were used. They were maintained with a granulated EMO: 1004 diet and water, both sterilized and given *ad libitum*, except 12 hours before the administration of the substance, in which they stayed unfed, and were applied an only dose of 2000 mg/kg of PC of IFOPOL<sup>s</sup> by oral route. In the Dermal Acute Toxicity, 10 Censp: NZW rabbits (5 females and 5 males) were used. They were maintained with a CMO: 1400 granulated diet and sterile water, both given *ad libitum* administered in the dose of 2000 mg/kg. There was an observation period 14 days in both assays. In such period, the environmental conditions and the appearance of toxicity and death signs were measured daily. In rabbits, observations included change in skin (irritation signs), as well as the body weight in the days 0, 7 14 of the assay. Outputs evidenced that IFOPOL<sup>s</sup> did not cause deaths, nor toxicity signs in the animals which maintained a weight curve in increment in both studies. Macroscopic alterations were not evidenced in rabbit skin, cavities or organs. By the Acute Toxicity Class Method, IFOPOL<sup>s</sup> is not classified; and in the dose of 2000 mg/kg of PC it did not cause Toxicity in the Dermal Acute Toxicity Assay in Censp: NZW rabbits.

(Key words: Toxicity classes; Dermal Acute; rats; rabbits; IFOPOL<sup>s</sup>)

---

## INTRODUCCIÓN

El producto conocido por IFOPOL<sup>s</sup> es obtenido por degradación térmica de la sacarosa en presencia de aminas inferiores y resulta una nueva generación en la producción de inhibidores enzimáticos para impedir la acción degradante de las enzimas (de la propia caña o de los microorganismos) sobre la sacarosa presente en la caña y sus jugos. Este producto logra su mayor efecto al fumigarse sobre campos de caña y sus jugos (8).

Según los estudios recientes sobre la calidad industrial de la caña se ha podido esclarecer que la Xilosa, la 1-Kestosa y la Lactosacarosa son azúcares que de estar presentes en la caña o sus jugos provocan una notable disminución de la eficiencia de la fábrica de azúcar. La aplicación de las soluciones de IFOPOL<sup>s</sup> a la caña luego del corte o durante la preparación para la molida, en dosis de 2-4 Kg/ 1000 t de caña, ha demostrado ser efectiva entre un 70- 90 % y producir ahorros de 5-9 % de la sacarosa originalmente presente en la caña, a las 24 horas de atraso.

El IFOPOL<sup>s</sup> es capaz de alterar la composición de carbohidratos de la caña y mejorar su calidad industrial inmediatamente antes de la cosecha.

La incorporación de un nuevo producto en el mercado lleva implícito la realización de un conjunto de investigaciones incluyendo los estudios toxicológicos, que determinan la seguridad de su uso (10). El objetivo de este ensayo fue clasificar al IFOPOL<sup>s</sup> comenzando por el nivel de dosis 2000 mg/Kg de PC, y evaluar el daño que pudiera ocasionar la administración por vía dérmica en conejos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sustancia ensayo

El IFOPOL<sup>s</sup> es un producto obtenido por el Instituto Cubano de Investigaciones Azucareras (ICINAZ, Habana, Cuba), tiene como principio activo los productos de la reacción Maillard (74%) y Propanodiol (26%), con un peso molecular aproximadamente de 400 ua, densidad de 1.297, se conserva a temperatura ambiente y no se afecta ante la presencia de la luz.

### Animales

Los animales procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, La Habana, Cuba).

Se recepcionó para el ensayo del Método de las Clases Toxicidad Aguda, un lote de 10 ratas hembras Cenp:SPRD de 6 semanas de edad, peso entre 150-

160 g. Los animales se alojaron en cajas plásticas de policarbonato (makrolón) TECNIPLAST tipo T4 (9), mantenidos en condiciones ambientales controladas (temperatura 24-25°C, humedad relativa 45-85% y fotoperíodo 12x12 h luz/oscuridad (1). Se alimentaron con la fórmula pelletizada EMO:1004 y agua ambos esterilizados y suministrados a voluntad.

En el ensayo de Toxicidad Aguda Dérmica se utilizaron 14 conejos Cenp:NZW (7 hembras y 7 machos), con un peso de 1.5 a 1.7 Kg. Los animales se alojaron individualmente en jaulas INPUD con bandejas para la recolección de los desechos, mantenidos en condiciones controladas con una temperatura de 24-27°C, humedad relativa 67-71% y fotoperíodo 12x12 h luz/oscuridad. Se alimentaron con la fórmula de pienso CMO:1400 granulada. Se utilizaron 10 conejos (cinco/ sexo), siendo la piel del propio animal del lado contrario su control negativo.

El agua esterilizada, se suministró a voluntad durante ambos ensayos. La identificación de los animales se realizó mediante tarjetas, con un número único de identificación del animal.

### Método de las Clases Toxicidad Aguda

El ensayo se realizó según lo establecido en la Organización para Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) (4), teniendo en cuenta (2, 7). La sustancia se administró por vía oral mediante intubación intragástrica, utilizando una cánula curva metálica, previo ayuno antes de la administración de la sustancia., en dosis inicial de 2000 mg/Kg de PC.

### Observaciones

Los animales se observaron individualmente luego de la administración, teniendo especial atención los primeros 30 minutos, 4 horas y periódicamente durante las primeras 24 horas; las observaciones se continuaron efectuando diariamente hasta completar los 14 días. Se registraron diariamente los signos clínicos, así como el peso individual de los animales en los días 0, 7 y 14 del ensayo.

### Signos de Toxicidad

Las observaciones incluyeron con especial atención a los signos de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargia, sueño, coma y muerte.

### Toxicidad Aguda Dérmica

El ensayo se realizó según lo establecido en la OCDE (3); aproximadamente 24 horas antes del inicio del ensayo el pelo fue cortado y afeitado, no menos del 10% de la superficie corporal del área dorsal de cada animal. La sustancia se aplicó en el lado de-

recho por vía dérmica con la ayuda de una espátula y manteniendo en contacto la piel con una gasa porosa y una cinta no irritante durante al menos 24 horas, para asegurar que se retuvo el IFOPOL<sup>s</sup> en el sitio de aplicación.

#### Observaciones

Se registraron los signos clínicos de los animales diariamente durante los 14 días del ensayo, así como el peso individual en los días 0, 7 y 14 del ensayo.

#### Signos de Toxicidad

Las observaciones incluyeron cambios en piel (incluidos signos de irritación) y pelaje, membranas mucosas y ojos, sistema respiratorio, circulatorio, nervioso central y autónomo, actividad somatomotora, y patrón de comportamiento, con especial atención a los signos de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargia, sueño, coma y muerte.

#### Examen Anatomopatológico

Al culminar los ensayos las ratas y los conejos fueron sacrificados, por el método de eutanasia dislocación cervical y decapitación respectivamente. Se realizó la necropsia, procediéndose a la observación macroscópica de las superficies externas del cuerpo, todos los orificios y cavidades (craneal, torácica y abdominal) y sus contenidos.

Ambos estudios fueron aprobados por el Comité de ética Institucional del CENPALAB y se realizaron según lo establecido por las Buenas Prácticas de Laboratorio (5).

#### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con la ayuda del paquete estadístico SPSS, para un nivel de significación de  $P < 0.05$  para la aceptación e interpretación de los resultados. Se determinó media y desviación estándar de los pesos corporales a los días 0, 7 y 14 del ensayo. Se realizó un Anova de una vía, para determinar diferencias entre los días experimentales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ambos ensayos los animales alcanzaron un 100% de supervivencia. No se observaron signos de toxicidad, al evaluarse la administración de una dosis máxima de 2000 mg/kg (3, 4).

Los valores de peso corporal obtenidos en los días 0, 7 y 14, en ambos ensayos, mostraron una tendencia al aumento continuo (Tabla 1 y 2), similar a las curvas de peso reportadas (6). Si tenemos en cuenta que el peso corporal es un parámetro de gran valor

en la evaluación toxicológica de una sustancia y su disminución pudiera considerarse como un efecto de toxicidad al organismo, obteniéndose diferencias entre los días del ensayo, dado el incremento de los pesos corporales.

**TABLA 1.** Valores de la media y desviación estándar de los pesos corporales (g) obtenidos con el ensayo del Método de Clases Toxicidad Aguda del IFOPOL<sup>s</sup>, en ratas Cenk: SPRD./ *Mean values and standard deviation of the body weights (g) obtained with the Acute Toxicity Class method of IFOPOL<sup>s</sup> in Cenk:SPRD rats*

	Día del ensayo		
	0	7	14
Hembras	169.2* ± 1.8	210.4 * ± 8.6	227.8 ± 8.7

\* Significativamente diferente del día 14  $p < 0.05$

**TABLA 2.** Valores de la media y desviación estándar de los pesos corporales (Kg) obtenidos con el ensayo de toxicidad aguda dérmica del IFOPOL<sup>s</sup> en conejos Cenk: NZW./ *Mean values and standard deviation of the body weights (Kg) obtained with the Dermal Acute Toxicity of IFOPOL<sup>s</sup> in Cenk:NZW rabbits*

	Día del ensayo		
	0	7	14
Hembras	2.06* ± 0.12	2.23* ± 8.90	2.41 ± 0.16
Machos	2.04* ± 8.26	2.18 ± 6.39	2.33 ± 0.15

\* Significativamente diferente,  $p < 0.05$

En la evaluación anatomopatológica no se observaron alteraciones macroscópicas en la superficie externa de los animales, ni en ninguna de las cavidades y órganos parenquimatosos explorados. La ausencia de manifestaciones clínicas en el ensayo agudo dérmico en conejos sugiere que el IFOPOL<sup>s</sup> es seguro para su aplicación sobre los campos de caña y sus jugos, lo que permitiría una mejor conservación de estos productos.

## CONCLUSIONES

El IFOPOL según el Método de las Clases Toxicidad Aguda se clasificó en la categoría 5 (no clasificada) y no provocó Toxicidad Aguda Dérmica en la dosis de 2000 mg/Kg, en conejos Cenk:NZW.

## REFERENCIAS

1. Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, CENPALAB (2000): *Guía para el cuidado, uso y reproducción de los animales para experimentación*. Edición 01/00.

2. María E. Arteaga, Ana M. Bada, Raiza Vega y Gastón García (2000): Test de Clasificación de Schlede como alternativa en la determinación de la DL 50. *Rev. Salud Anim.* 22(3): 183-188.
3. Organización para Cooperación y el Desarrollo Económico, OCDE (1987): Acute Dermal Toxicity. *Guidelines for the Testing of Chemicals*. Section 4, "Health effects". N° 402. Paris.
4. Organización para Cooperación y el Desarrollo Económico, OCDE (2000): Acute Toxic Class Method. *Guidelines for the Testing of Chemicals*. Section 4, "Health effects". N° 423. Paris.
5. Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio no Clínico de Seguridad Sanitaria y Medio Ambiental (2004): República de Cuba. MINSAP. Buró Regulatorio para la Protección de la Salud Pública, *Regulación 39*.
6. Product Guide Effective Harlan (2006): outbred rats, June 1, page 2 Sprague Dawley®™. New Zealand white Rabbits page 29. Disponible <http://www.harlan.com> [Consulta: 20 de enero 2007].
7. Vega, R.; Garcia, G.; Freeman, M.; Betancourt, J.; Rodeiro, I.; Arteaga, M.E. (1999): A validation study in Cuba of the acute toxic class method. *Alternatives to laboratory Animals* Vol. 27. Special ISSUE, July. ATLA.ISSN: 0261-1929. N°259464.
8. Ramos, E.L.; Ravelo, S. (2007): Nuevo producto capaz de mejorar la calidad de la caña. Disponible <http://ramguira.topcities.com/Ifopols.htm> [Consulta: 10 de octubre 2007].
9. TECNIPLAST (1999-2000): Equipment for small animals. TECNIPLAST GAZZADA S.a.r.l. Italy.
10. Zbinden, G. (1991): Predictive value of animal studies in toxicology: *Regul. Toxicol. Pharm.* 14: 167-177.

(Recibido 8-6-2006; Aceptado 12-9-2007)

## Centro de Capacitación para la Reducción de Desastres Sanitarios en Animales y Plantas

