

## **Orientações para a elaboração de Relatório técnico-científico (RTC) para avaliação de risco de medicamentos veterinários**

A Resolução RDC Anvisa nº 328/2019 estabelece que a petição de avaliação de risco de medicamentos veterinários deve conter Relatório técnico-científico (RTC) com as informações nela previstas. O presente documento fornece orientações gerais sobre a forma de apresentação desse RTC.

### **Legislação aplicável:**

Resolução RDC Anvisa nº 328, de 19 de dezembro de 2019, que dispõe sobre a avaliação do risco à saúde humana de medicamentos veterinários e os métodos de análise para fins de avaliação da conformidade.

Instrução Normativa Anvisa nº 51, de 19 de dezembro de 2019, que estabelece a lista de limites máximos de resíduos (LMR), ingestão diária aceitável (IDA) e dose de referência aguda (DRfA) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal.

### **Código de assunto:**

4118 Avaliação de risco de medicamentos veterinários

<b>1. IDENTIFICAÇÃO DO REQUERENTE</b>
Razão social: CNPJ: Endereço completo:
<b>2. IDENTIFICAÇÃO DO FABRICANTE</b>
Razão social: CNPJ: Endereço completo:
<b>3. IDENTIFICAÇÃO DO IFA</b>
- Nesta seção, deve ser apresentada, de forma clara, a nomenclatura para o IFA objeto da avaliação de risco, de modo a evitar equívocos quanto à sua identidade. Incluir as seguintes informações: <ul style="list-style-type: none"><li>• Denominação INN (<i>International Non-proprietary Name</i>)</li></ul>

- Nomenclatura IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*)
- Sinônimos
- Número CAS (*Chemical Abstract Service*)
- Fórmula estrutural dos principais componentes
- Fórmula molecular
- Massa molecular relativa
- Indicar se a estrutura e as informações associadas são para uma forma de sal usada no produto comercial ou uma forma livre do IFA e se o produto contém uma mistura de isômero.

### 3.1. Propriedades físico-químicas

- Pureza do IFA
- Aparência
- Composição qualitativa e quantitativa das impurezas
- Ponto de fusão
- Solubilidade em água destilada expressa em gramas por litro, com indicação da temperatura, Log  $K_o/w$  ou Coeficiente de Partição.
- Solubilidade em solventes orgânicos expressa em gramas por litro, com indicação da temperatura, Log  $K_o/w$  ou Coeficiente de Partição.
- pH
- Rotação óptica
- Comprimento de onda de máxima absorção na região do ultravioleta (UVmax)
- Estabilidade

### 3.2. Identificação do medicamento veterinário

- Incluir informações gerais sobre a natureza da substância, como a atividade (se a substância é usada como antibacteriano, coccidiostático, etc.) e o microrganismo contra o qual é ativa ou a condição para a qual é usada como tratamento terapêutico. Para agentes aprovados para outros usos, como auxiliar na produção, declarar a natureza desse uso. As informações devem incluir a espécie e a classe de animais produtores de alimentos para os quais a substância é aprovada e períodos de carência. Devem ser anotadas quaisquer restrições de uso.

- Incluir as seguintes informações:

- Produto (nome comercial)
- Classificação terapêutica
- Formulação
- Indicações de uso, dose e via de administração
- Período de carência proposto
- Dados do registro do medicamento veterinário no Brasil e em outros países, incluindo condições de uso

#### 4. PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS

##### 4.1. Mecanismo de ação

- Descrever brevemente o mecanismo de ação do IFA.

##### 4.2. Farmacocinética em animais de laboratório

- Protocolo: OECD 417.

- As informações nesta seção devem ser restritas a animais experimentais, como camundongos, ratos, coelhos e cães. As informações sobre o metabolismo em animais produtores de alimentos, como bovinos, caprinos, equinos e aves, devem ser incluídas na seção de avaliação de resíduos e não devem ser repetidas aqui. Informações sobre suínos podem ser incluídas se a espécie for um bom modelo animal para os seres humanos em relação ao desfecho de preocupação.

- A discussão deve focar em informações-chave de relevância para o comportamento dos resíduos e na recomendação de LMRs. Normalmente, as informações são fornecidas em uma ou mais espécies, mais comumente ratos e/ou camundongos, seguidas por cães. A ordem usual de apresentação é rato, depois camundongos, cães, macacos e qualquer outra espécie de laboratório. Um subtítulo separado deve ser usado para cada espécie animal.

##### 4.2.1. Estudos de absorção, distribuição e excreção

- Para cada estudo, devem ser fornecidos detalhes sobre a posição e o tipo do radio marcado utilizado, espécies teste, sexo e número de animais, níveis de dose utilizados (tanto em termos do IFA [mg/kg p.c.] quanto de radioatividade [MBq/kg p.c.], conforme apropriado) e a via de exposição.

- As informações nesta seção incluem, sempre que possível:

- hidrólise/metabolismo do composto precursor e seus produtos no trato gastrointestinal de mamíferos (incluindo produtos do metabolismo pela microflora intestinal) (distinguir entre hidrólise/metabolismo antes da absorção e de produtos de excreção biliar);
- taxa e extensão da absorção do composto inalterado e seus produtos de hidrólise ou digestão, com tempo de concentração máxima (Tmax) e a concentração alcançada (Cmax);
- biodisponibilidade do composto precursor;
- padrão e taxa de distribuição de substâncias absorvidas em tecidos e órgãos;
- modo, taxa e extensão de excreção ou eliminação do composto precursor e/ou radio marcado de sangue e tecidos, com percentual de recuperação na principal excreta (urina, fezes, bile) durante um determinado intervalo de tempo (por ex., 35% na urina de 0 a 48 horas);
- parâmetros farmacocinéticos, como volume de distribuição, tempo de meia-vida no plasma e *clearance* do organismo.

- Deve estar claro se os achados se relacionam ao material radio marcado ou ao composto precursor.

- Devem ser observadas diferenças entre sexos, tamanhos da dose e dosagem única *versus* repetida, juntamente com quaisquer outros achados relevantes.

- Informações sobre o metabolismo não devem ser incluídas nesta seção, e sim na seção sobre biotransformação.

#### 4.2.2. Biotransformação

- Esta seção deve descrever o metabolismo do composto precursor, se absorvido como tal, e de seus metabólitos identificados em tecidos específicos, urina e fezes e qualquer informação sobre resíduos vinculados. Informações sobre as principais rotas do metabolismo, o perfil de metabólitos e modo, taxa e extensão de excreção ou eliminação de metabólitos identificados devem ser incluídos aqui.
- Um esquema metabólico ou de biotransformação mostrando as principais reações metabólicas deve ser incluído juntamente com a identificação da espécie a que se aplica.
- Onde informações sobre o metabolismo forem obtidas a partir de estudos previamente descritos na seção 4.2.1, uma breve descrição do estudo e referência cruzada a essa seção pode ser feita, em vez de repetir detalhes completos do estudo.
- Quando houver múltiplos estudos para uma espécie, esses estudos devem ser incluídos em ordem cronológica, a menos que um estudo seja considerado mais significativo ou mais confiável.

#### 4.2.3. Efeitos sobre enzimas e outros parâmetros bioquímicos

- Esta seção deve descrever os efeitos de substâncias absorvidas e/ou seus metabólitos na produção e morfologia celular e tecidual, constituição química, atividade enzimática ou estado físico-químico. Se não houver informações relevantes a serem incluídas, o título pode ser excluído.

#### 4.3. Cálculo da IDA farmacológica, se relevante

- O NOAEL farmacológico, derivado dos resultados dos meios de administração mais relevantes (por exemplo, a via oral) e do teste farmacológico mais sensível, deve ser identificado e levado em conta na definição da IDA.
- Se disponíveis, os dados de uso humano são preferíveis.

### 5. AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA

- Devem ser incluídas informações resumidas de cinco categorias principais de estudos: genotoxicidade, toxicidade aguda, estudos de curto prazo de toxicidade, estudos de longo prazo de toxicidade e carcinogenicidade, e toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento. Para IFA com atividade microbiológica, os estudos incluem efeitos na flora intestinal humana. Às vezes, esses estudos de rotina apontam para a necessidade de olhar para determinados órgãos/tecidos-alvo ou desfechos; tais estudos são classificados como estudos especiais.
- Além das informações relativas ao IFA, informações separadas sobre a toxicologia de um metabólito e/ou excipiente podem ser necessárias para avaliar a segurança do alimento para humanos.
- Estudos que forneçam as bases para a avaliação devem ser resumidos com maior detalhe do que outros. Resumos de uma frase podem ser suficientes para relatar os resultados de estudos de desenho limitado ou de menor relevância para a avaliação.
- Todos os estudos citados no Relatório Técnico-científico (RTC) devem ser encaminhados na íntegra, como anexos. A ausência de qualquer um dos estudos listados deve ser tecnicamente justificada. A apresentação dos estudos toxicológicos pode ser dispensada para IFA e metabólitos que possuem avaliação de risco publicada e IDA estabelecida pelo *Codex Alimentarius*. A avaliação de risco publicada

por autoridades estrangeiras que tenham similaridade de requisitos regulatórios com o Brasil pode subsidiar a avaliação de risco peticionada.

- Os estudos toxicológicos devem ser conduzidos e relatados de acordo com protocolos atualizados descritos nas séries da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) ou nas orientações publicadas nos Guias da Conferência Internacional de Harmonização dos Medicamentos Veterinários (VICH) e seguirem os princípios de Boas Práticas de Laboratório (BPL). Situações que requerem adaptação ou um novo protocolo de estudo devem ser justificadas e conter descrição dos procedimentos utilizados. Se não houver certificação BPL, deve ser observado se o estudo foi inspecionado por uma unidade de garantia de qualidade (GQ), conforme declaração de GQ assinada. Além disso, sempre que o autor fornecer informações sobre a diretriz ou o protocolo seguido, deve ser assim indicado. Estudos antigos nos quais os princípios de BPL não foram adotados podem ser aceitos, desde que constatada sua qualidade científica e a adequação do desenho para avaliação do IFA e seus metabólitos.

- Os detalhes que devem ser descritos para cada estudo toxicológico incluem:

- Finalidade ou objetivo do estudo.
- Identidade, especificação e pureza do material de ensaio e seu número de partida/lote; natureza de quaisquer impurezas potencialmente tóxicas importantes.
- Duração do estudo.
- Espécies e cepas de animais utilizados.
- Método de dosagem.
- Veículos utilizados para estudos de gavagem.
- Sexo e número de animais em cada grupo.
- Todos os níveis de dose administrados, incluindo zero para controles. Níveis de administração em termos de mg/animal por dia devem ser convertidos em mg/kg p.c.
- Quaisquer mortalidades observadas durante o estudo, tanto em grupos tratados quanto em grupos controle; descrição dos achados relacionados ao composto, se houver, identificando o efeito, sua gravidade ou magnitude e, para dados dicotômicos, uma indicação do número de animais afetados. Esses dados são frequentemente apresentados na forma tabular. Se não foram observados efeitos significativos em um determinado nível de dose, uma simples declaração para esse efeito deve ser feita.
- Se há dose-dependência dos achados e se não, se há alguma explicação para isso.
- Quaisquer achados estatisticamente significativos, mas que sejam considerados como não adversos ou não relevantes para uma avaliação de risco humano.
- Quaisquer achados no início do estudo que possam ser relevantes para o estabelecimento de uma DRfA.
- O ponto de partida (POD), como o NOAEL (se um foi identificado), e os achados críticos nos quais o POD se baseou (por exemplo, no LOAEL), deve ser dado no final da descrição do estudo.
- Autor e data de elaboração do relatório no final da descrição do estudo.

### **5.1. Estudos de genotoxicidade**

- Protocolos: VICH GL23, OCDE TG 471, OCDE 487 e outros.

- Os estudos devem fornecer informações sobre os seguintes desfechos: indução de mutação de genes, alterações cromossômicas numéricas e estruturais.
- Devem ser apresentados pelo menos dois estudos:
  - Teste de mutação reversa bacteriana em *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* (OCDE TG 471); e
  - Teste de micronúcleo *in vitro* com células de mamíferos (OCDE 487).
- A avaliação do potencial genotóxico de um composto deve levar em conta a totalidade dos achados e reconhecer os valores e limitações intrínsecas tanto dos testes *in vitro* quanto *in vivo*:
  - Se todos os desfechos testados *in vitro* forem claramente negativos, pode-se concluir com uma certeza razoável que a substância não tem potencial genotóxico. Se os resultados forem inconclusivos ou equívocos, pode ser necessário repetir o mesmo teste *in vitro* (mesma ou outras condições: solventes, faixa de dose) ou realizar outro teste *in vitro* mais adequado. Se os resultados forem positivos, testes *in vivo* são necessários.
  - Se uma substância dá resultados claramente positivos para genotoxicidade *in vitro* e no teste *in vivo*, nenhum teste adicional é necessário e a substância deve ser considerada como genotóxica *in vivo*. No entanto, em alguns casos, testes adicionais podem ser necessários.
  - Se uma substância dá resultados claramente positivos para genotoxicidade *in vitro*, mas um resultado claramente negativo no teste de genotoxicidade *in vivo* realizado usando medula óssea, será necessário confirmar se é genotóxico ou não com outro teste *in vivo* usando um tecido alvo diferente da medula óssea. O teste mais apropriado precisará ser escolhido caso a caso. Se o resultado for negativo, é possível concluir que a substância não é genotóxica *in vivo*. No caso de outros resultados positivos ou equivocados na bateria padrão de testes, a necessidade de novos testes deve ser decidida caso a caso.
- A escolha dos testes *in vivo* é feita caso a caso. Os testes devem estar relacionados aos desfechos genotóxicos identificados como positivos nos testes *in vitro* e apropriados aos tecidos ou órgãos-alvo. Os seguintes testes *in vivo* são recomendados:
  - Teste de micronúcleo em eritrócito de mamífero (OCDE TG 474) (para avaliar aberrações cromossômicas estruturais ou numéricas; quando testes OCDE 473 ou 487 forem positivos);
  - Teste de aberração cromossômica *in vivo* (OCDE TG 475) (pode ser usado de forma complementar ao TG 474);
  - Teste de síntese de DNA não programada (UDS) usando células de fígado de mamífero *in vivo* (OCDE TG 486);
  - Teste de mutação genética com roedores transgênicos (OCDE TG 488) (quando TG 471, 476 ou 490 derem positivos; mede mutações genéticas diretamente em diferentes tecidos alvo);
  - Ensaio cometa (OCDE TG 489) (teste indicador de dano ao DNA em múltiplos tecidos incluindo o lugar de primeiro contato para substâncias rapidamente metabolizáveis ou que não estão disponíveis de forma sistêmica).
- Outros ensaios de genotoxicidade disponíveis:
  - *In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests Using the Thymidine Kinase Gene* (OECD 490).
  - *Mammalian Spermatogonial Chromosomal Aberration Test* (OECD 483).
  - *Rodent Dominant Lethal Test* (OECD 478).
  - *In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests using the Hprt and xprt genes* (OECD 476).
  - *In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test* (OECD 473).

## 5.2. Estudos de toxicidade aguda

- Protocolos: OECD 401, 423 ou 425.
- Os resultados de estudos de toxicidade aguda expressos em termos da dose letal mediana (DL50) (utilizada para administração oral, intramuscular, intraperitoneal ou dérmica) e/ou concentração letal mediana (CL50) (utilizada para administração por inalação) devem ser apresentados na forma tabular.
- Outros dados de toxicidade aguda importantes para a avaliação, como a natureza da toxicidade, sinais clínicos e tecidos alvo, podem ser apresentados de forma sumária como texto ou em notas abaixo da tabela.
- Embora estudos agudos dérmicos, de inalação, de irritação dérmica e ocular e estudos de sensibilização dérmica não sejam diretamente relevantes para fins de avaliação de risco dietético na maioria dos casos, esses estudos podem, em alguns casos, fornecer informações complementares úteis para auxiliar na avaliação de risco (por exemplo, confirmação da irritação localizada do trato gastrointestinal por observações da pele e/ou irritação ocular). Assim, um resumo conciso dos resultados desses estudos de toxicidade não oral deve ser incluído no RTC, quando disponíveis. Os estudos de irritação dérmica e ocular são descritos brevemente, sem detalhes metodológicos ou mínimos, embora as espécies em que os estudos foram realizados devam ser indicadas. A descrição de sensibilização dérmica deve incluir o número de animais respondendo e o método de teste utilizado.

## 5.3. Estudos de toxicidade subcrônica (90 dias)

- Protocolos: VICH GL31 e OECD 408.
- Os protocolos para estudos de toxicidade subcrônica definem uma variedade de desfechos e indicadores de toxicidade, com uma investigação exaustiva de todos os parâmetros toxicológicos relevantes, incluindo sinais clínicos, mortalidade, peso corpóreo e dos órgãos, consumo de alimento, bioquímica clínica, hematologia, urinálise, exames anatomopatológicos e histopatológicos. Essa investigação pode ser complementada com biomarcadores validados para efeitos específicos.

## 5.4. Estudos de toxicidade crônica

- Protocolos: VICH GL37 e OECD TG 451, 452 ou 453.
- Caracterizam a toxicidade de uma substância após a exposição prolongada e repetida, sendo utilizados para o estabelecimento do NOAEL. Devem ser conduzidos por um período de um ano em roedores.
- A necessidade de estudos de toxicidade crônica ou de carcinogenicidade vai depender dos achados do estudo subcrônico bem como dos resultados de testes de toxicidade *in vitro* e *in vivo*, incluindo testes de genotoxicidade.

## 5.5. Estudos de carcinogenicidade

- Protocolos: VICH GL28 e OECD 451, 452 ou 453.
- Para compostos suspeitos de potencial carcinogênico, é necessário testar a carcinogenicidade pela via oral. A decisão de exigir testes de carcinogenicidade baseia-se em todos os dados disponíveis, incluindo resultados dos testes de genotoxicidade, informações da relação estrutura-atividade (SAR) e resultados de estudos de dose repetida e de mecanismo. Recomenda-se que os testes de carcinogenicidade sejam realizados utilizando um bioensaio de carcinogenicidade. No entanto, informações derivadas de um ensaio combinado para carcinogenicidade e toxicidade crônica também seriam aceitáveis.



#### **5.6. Estudos de toxicidade sobre a reprodução**

- Protocolos: VICH GL22 e OECD 416, 421 e/ou 422.
- Os estudos de reprodução de multigerações são desenhados para detectar qualquer efeito na reprodução de mamíferos. Estes incluem efeitos sobre a fertilidade masculina e feminina, acasalamento, concepção, implantação, capacidade de manter a gravidez a termo, parto, lactação, sobrevivência, crescimento e desenvolvimento da prole desde o nascimento até o desmame, maturidade sexual e a função reprodutiva subsequente da prole como adultos.

#### **5.7. Estudos de toxicidade sobre o desenvolvimento (teratogenicidade)**

- Protocolos: VICH GL32 e OECD 414, 421 e/ou 422.
- Esses testes são realizados em duas espécies (uma roedora e outra não roedora) e devem avaliar os seguintes parâmetros: morte e reabsorção do embrião ou do feto, efeitos teratogênicos (malformações), retardo no crescimento ou atrasos específicos sobre o desenvolvimento e diminuição de capacidades funcionais pós-natal.

#### **5.8. Testes adicionais**

- Ocasionalmente, numa abordagem caso a caso, é necessária a realização de estudos toxicológicos adicionais ou especializados para avaliar achados toxicológicos ou farmacológicos imprevistos ou incomuns obtidos do conjunto inicial de estudos toxicológicos recomendados. Estudos adicionais podem ser solicitados para abordar uma preocupação particular de toxicidade (por exemplo, efeitos farmacológicos, imunotoxicidade, neurotoxicidade, carcinogenicidade, disfunção endócrina).
- Estudos especializados para identificação de efeitos específicos relacionados à estrutura, classe e modo de ação do IFA ou seus metabólitos e utilizados na interpretação ou na avaliação da relevância dos dados.

#### **5.9. IDA toxicológica**

- Uma IDA para um IFA geralmente se baseia na toxicidade da substância original e não nos seus metabólitos. No entanto, às vezes pode ser necessário calcular uma IDA para metabólitos individuais.
- O NOEL/NOAEL ou o BMDL (menor limite de confiança unilateral do BMD) do estudo toxicológico mais relevante e apropriado será usado como ponto de partida (POD) para o cálculo da IDA toxicológica para os resíduos totais do IFA.
- O fator de segurança geralmente escolhido é 100 na situação em que um NOAEL é derivado de um estudo de longo prazo com animais. Quando nenhum efeito adverso à saúde é observado em estudos de longo prazo, um fator de segurança de 100 pode ser aplicado ao NOAEL derivado de estudos de curto prazo em que níveis mais altos de dose foram usados e um efeito foi observado. Os estudos de curto prazo aceitáveis precisam ser de pelo menos três meses. Em ocasiões limitadas, é possível empregar fatores de segurança mais altos (por exemplo, 200, 500, 1000) dependendo da qualidade e quantidade dos dados, do tipo e relevância da resposta toxicológica, das características da relação dose-resposta e das necessidades de extrapolação para subpopulações vulneráveis. Quando os únicos efeitos toxicológicos notáveis são observados em estudos em humanos, um fator de segurança mais baixo (por exemplo, dez) pode ser aplicado. Fatores de incerteza distintos de 100 devem ser devidamente justificados.



## 6. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

- Protocolo: VICH GL36.

- Antes da fixação dos LMRs, para IFA com atividade antimicrobiana, é exigido que se façam estudos do impacto que possam ter sobre a microbiota do TGI humano.

- A diretriz VICH utiliza uma árvore decisória para determinar a necessidade de se estabelecer uma IDA microbiológica. As três primeiras etapas consideram se: 1) os resíduos do medicamento e/ou seus metabólitos são microbiologicamente ativos contra os representantes da flora intestinal humana, 2) os resíduos atingem o cólon humano e 3) os resíduos que atingem o cólon humano permanecem microbiologicamente ativos. Se a resposta for “não” a qualquer uma das três primeiras etapas, então não será necessário IDA microbiológica. Além disso, a definição de uma IDA microbiológica não será necessária se demonstrado que as concentrações dos resíduos ativos no cólon são suficientemente baixas que seria muito improvável afetar a ecologia da microbiota intestinal.

- Devem ser considerados efeitos adversos como a emergência e seleção de populações resistentes a medicamentos, a disrupção da barreira de colonização ou alterações na atividade metabólica da microflora no trato gastrointestinal especificamente associados ao impacto adverso à saúde humana.

- Os estudos devem ser conduzidos e relatados de acordo com protocolos atualizados descritos nas séries da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) ou nas orientações publicadas nos Guias da Conferência Internacional de Harmonização dos Medicamentos Veterinários (VICH) e seguirem os princípios de Boas Práticas de Laboratório (BPL). Situações que requerem adaptação ou um novo protocolo de estudo devem ser justificadas e conter descrição dos procedimentos utilizados. A apresentação dos estudos microbiológicos pode ser dispensada para os IFA e seus metabólitos que possuem avaliação de risco publicada e IDA estabelecida pelo *Codex Alimentarius*. A avaliação de risco publicada por autoridades estrangeiras que tenham similaridade de requisitos regulatórios com o Brasil pode subsidiar a avaliação de risco peticionada.

### 6.1. Potenciais efeitos sobre a barreira de colonização do trato intestinal humano

- Se a disrupção da barreira de colonização for a preocupação, deve ser realizado um teste preliminar e determinada a MIC da droga contra 100 cepas da flora predominante e, então, utilizar a MIC geométrica média do gênero ou gêneros mais sensíveis para derivar uma IDA.

- Outros sistemas de modelos intestinais simulados *in vitro* também podem ser usados para estabelecer uma NOEC para derivar uma IDA.

### 6.2. Aumento da resistência em bactérias residentes no cólon humano

- Se a preocupação for o surgimento da resistência antimicrobiana, então deve ser realizado um teste *in vitro* (cultura contínua de inóculo fecal) ou *in vivo* (modelo roedor HFA).

### 6.3. IDA microbiológica

- Nos casos em que o IFA tem efeitos sobre mais de um desfecho microbiológico, o mais sensível é usado para estabelecer a IDA microbiológica.

- Diferentes fatores são considerados no estabelecimento de uma IDA baseada em um desfecho microbiológico (por exemplo, MIC ou efeitos adversos na microflora intestinal humana). Ao estabelecer uma IDA baseada em microbiologia, o fator de segurança é usado para explicar a incerteza sobre a

quantidade e a relevância dos dados da MIC disponíveis. Os fatores de segurança considerados apropriados para os desfechos microbiológicos são de 1 a 10, considerando a quantidade e a qualidade dos dados.

## 7. CONCLUSÃO SOBRE A IDA E DRfA

- Na avaliação de risco dos efeitos crônicos da exposição a resíduos de medicamentos veterinários, o POD para os desfechos mais sensíveis e relevantes (toxicológico, farmacológico ou microbiológico) é usado para estabelecer a IDA.
- A IDA se aplica à população geral (incluindo todas as subpopulações). As diferenças apreciáveis no consumo alimentar de diferentes subpopulações devem ser consideradas na caracterização de estimativa de exposição em diferentes subpopulações. No entanto a IDA por si, como indicador de risco, é independente de exposição.
- Se o efeito agudo é o mais sensível e relevante, ele será a base tanto da DRfA quanto da IDA. Se a DRfA for menor que a IDA, a IDA deve ser alterada para o mesmo valor numérico da DRfA e deve ser baseada neste efeito.
- Indicar a IDA estabelecida em  $\mu\text{g}$  para uma pessoa de 60 kg. O valor numérico da IDA é quase sempre expresso como uma faixa que se estende de zero a um limite superior.
- A IDA é válida apenas para produtos que não diferem significativamente em identidade e qualidade do material usado para gerar os dados usados para a avaliação.
- Não deve ser definida IDA para IFA e seus metabólitos quando a avaliação de risco indicar mutagenicidade, carcinogenicidade, efeitos adversos na reprodução ou teratogenicidade.

### 7.1. DRfA

- Protocolo: VICH GL54.
- Princípios para quando e como estabelecer DRfA para medicamentos veterinários:
  - O principal ponto para a necessidade de considerar a definição de uma DRfA é o perfil toxicológico do composto. Para um medicamento veterinário, a alta exposição também pode ser uma consideração.
  - Atualmente, os dados são insuficientes para determinar um valor de corte toxicológico genérico para efeitos agudos com base em considerações de exposição; portanto, a decisão sobre a definição de uma DRfA é tomada após consideração caso a caso de diferentes cenários de exposição aguda (realista), permitindo assim considerações de exposição prática.
  - Para a definição de DRfA para medicamentos veterinários, podem ser utilizados conceitos básicos como aqueles estabelecidos para resíduos de agrotóxicos. As principais diferenças entre medicamentos veterinários e agrotóxicos dizem respeito aos efeitos microbiológicos e a cenários específicos de exposição.
  - Em relação aos efeitos farmacológicos – ou seja, interação com alvos moleculares (por exemplo, receptores) – observou-se que este não é exclusivo de medicamentos veterinários e que tais efeitos não levantam automaticamente uma preocupação aguda com a saúde. Tais efeitos precisam ser considerados para efeitos agudos e crônicos à saúde, da mesma forma que para efeitos tóxicos. Na prática, isso pode levar ao mesmo valor numérico para a IDA e DRfA.

- Em relação às considerações para uma DRfA microbiológica, uma exposição aguda da microbiota intestinal seria diferente da exposição diária crônica avaliada para estabelecer a IDA microbiológica e que o desfecho microbiológico mais relevante para exposição aguda provavelmente seria a ruptura da barreira de colonização.
- Em relação às implicações para as recomendações do LMR, continuar com derivações de LMR compatíveis com a exposição crônica (ou seja, a IDA) e os respectivos tempos de retirada.
- Se uma DRfA também for estabelecida para o composto, uma avaliação de exposição aguda deve ser realizada com base nas concentrações teciduais nos tempos estimados de retirada.

- A DRfA, se estabelecida, é dada como um número único (x mg/kg p.c.).

- Se uma DRfA não for estabelecida, deve ser incluída uma justificativa do motivo para que esse valor de orientação à saúde não seja necessário. Por exemplo: O perfil de uso de [composto x] como um medicamento veterinário é tal que a exposição dietética a [composto x] de uma grande porção é improvável que seja marcadamente maior do que a do consumo crônico. O perfil toxicológico de [composto x] é tal que é improvável que apresente um risco agudo. Por conseguinte, se concluiu que não era necessário avaliar o risco agudo de exposição ao [composto x] quando utilizado como medicamento veterinário.

- O POD usado como base de uma DRfA pode ser de estudos em animais experimentais, mas, particularmente para os efeitos agudos de medicamentos veterinários, pode ser de estudos em humanos, pois alguns IFA também são usados como medicamentos para humanos e, portanto, foram eticamente testados em pessoas. No entanto, para proteger contra todos os possíveis efeitos adversos à saúde, a totalidade dos dados de humanos e animais experimentais precisa ser levada em conta.

- Alguns efeitos agudos podem ser biologicamente relevantes apenas para algumas subpopulações. Assim, poderia ser apropriado estabelecer tal DRfA apenas para a subpopulação em risco. A instância mais comum disso seriam os efeitos no desenvolvimento. Somente gestantes estariam em risco de exposição aguda a tal composto e, portanto, a DRfA poderia ser estabelecida para mulheres em idade fértil. Quando efeitos sistêmicos agudos também ocorrem, embora em doses mais altas, mas ainda de potencial preocupação para os consumidores, uma segunda DRfA pode ser estabelecida para a população em geral (que incluiria crianças).

- Orientações detalhadas para o estabelecimento de DRfA podem ser encontradas em: FAO/WHO (2012 e 2016), Solecki *et al.* (2005), OECD (2010) e WHO (2015).

## 8. AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS

- Os estudos de resíduos devem permitir uma avaliação completa da natureza e depleção dos resíduos da substância, incluindo uma avaliação de exposição alimentar, e para formular valores de LMR. Os testes estudam a quantidade e a natureza dos resíduos de medicamentos veterinários em tecidos de animais produtores de alimentos, incluindo os metabólitos relevantes à saúde humana.

- Quando há múltiplos estudos para uma espécie, estes geralmente são apresentados em ordem cronológica. No entanto, se um estudo for considerado mais significativo ou mais confiável do que outros estudos, este pode ser discutido em primeiro lugar e com maior detalhe, com os outros seguindo como informações adicionais ou estudos de apoio.

- Um subtítulo adicional deve ser incluído quando houver informações sobre a biodisponibilidade de resíduos ligados em alimentos de origem animal.

- Resumir cada estudo e seus resultados, incluindo as seguintes informações:

- O objetivo, o estado BPL e a referência do estudo.

- A raça e o número de animais, sexo, idade e peso.
- A duração do estudo, os tempos de amostragem e o número de animais sacrificados a cada tempo de amostragem.
- A natureza da formulação utilizada no estudo, dose, rota da administração e frequência da administração.
- Os resultados, incluindo quais resíduos foram identificados em tecidos específicos, urina e fezes. Incluir uma tabela ou tabelas com parâmetros farmacocinéticos, quando apropriado.
- A descrição geral do método analítico e as informações de validação. Desempenho do método. O LOD e LOQ dos métodos analíticos utilizados no estudo.
- Qualquer informação adicional que possa ter impactado os resultados, incluindo estabilidade do analito durante o armazenamento.
- A recuperação analítica, se for o caso. A recuperação de métodos usando a detecção de radio marcado geralmente é de 100%, por isso as informações de recuperação devem se concentrar em métodos para compostos precursores e/ou metabólitos usando métodos de detecção com IFA não radio marcado .

- Todos os estudos mencionados no RTC devem ser fornecidos como anexos no dossiê (devendo ser classificados por categoria - farmacocinética, metabolismo, depleção de resíduos, etc.), incluindo os dados brutos. Todos os estudos fornecidos devem ser referenciados no relatório.

- Os estudos devem ser conduzidos e relatados de acordo com protocolos atualizados descritos nas orientações publicadas nos Guias da Conferência Internacional de Harmonização dos Medicamentos Veterinários (VICH) e seguirem os princípios de Boas Práticas de Laboratório (BPL). Situações que requerem adaptação ou um novo protocolo de estudo devem ser justificadas e conter a descrição dos procedimentos utilizados. Estudos antigos nos quais os princípios de BPL não foram adotados podem ser aceitos, desde que constatada sua qualidade científica e a adequação do desenho para avaliação dos IFA e seus metabólitos. A apresentação dos estudos de resíduos pode ser dispensada para IFA e seus metabólitos que possuem LMR estabelecido pelo *Codex Alimentarius*.

### **8.1. Farmacocinética em animais produtores de alimentos**

- Utilizar subtítulos para cada espécie animal produtora de alimento. A ordem usual de apresentação é bovino, depois suíno, ovino, outros mamíferos, como equino ou caprino, depois frango, outras aves, coelho e peixe. O foco da avaliação e discussão deve ser a absorção e eliminação do IFA em espécies animais produtoras de alimento e os parâmetros farmacocinéticos associados. Questões relacionadas a resíduos em locais de injeção ou aplicação devem ser observadas, e devem ser discutidas semelhanças ou diferenças na absorção ou eliminação entre espécies. A biodisponibilidade de medicamentos de acordo com as rotas de administração e formulações deve ser relatada. Quando as informações farmacocinéticas estão disponíveis para várias espécies animais produtoras de alimentos, pode ser apropriado incluir um parágrafo sumário e uma tabela no final da seção.

### **8.2. Estudos de depleção de resíduos com IFA radio marcado: Estudos de metabolismo**

- Protocolo: VICH GL 46.

- Esses estudos são também referidos como “estudos de resíduos totais”.

- Esta seção deve incluir apenas dados de estudos em animais produtores de alimentos. Descrever os estudos disponíveis por espécie, sob subtítulos que identificam as espécies. A ordem usual de apresentação é: bovino, depois suíno, ovino, outros mamíferos, como equino e caprino, depois frango, outras aves, coelho e peixe.

- Os estudos devem investigar a quantidade e natureza dos resíduos totais e resíduos de preocupação, os perfis metabólicos em espécies alvo (metabólitos principais e menores), resíduos que podem servir de marcador para métodos analíticos, composição e cinética de depleção do TRR em tecidos comestíveis, tecidos alvo para resíduos.
- Identificar metabólitos e tecidos e excreta em que são encontrados. A seção de metabolismo deve incluir uma figura que define o caminho metabólico para as espécies para as quais os metabólitos foram identificados. Quando o metabolismo é complexo e envolve diferentes metabólitos em diferentes espécies, pode ser apropriado fornecer um diagrama da via metabólica para cada espécie.
- Elementos básicos do desenho do estudo:
  - Estudo tipicamente realizado usando o IFA radio marcado (estudo de resíduos totais).
  - O carbono-14 é o isótopo radioativo escolhido porque a troca intermolecular não seria problema (outros isótopos, como  $^3\text{H}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{15}\text{N}$  ou  $^{35}\text{S}$  podem ser apropriados).
  - A formulação do produto deve ser o mais semelhante possível à formulação final pretendida.
- Os dados fornecem informações sobre a distribuição relativa dos resíduos da droga nos diversos tecidos comestíveis (fígado, rim, músculo, gordura) e as recomendações de LMR devem refletir essa distribuição.
- Os dados devem ser apresentados de maneira que seja possível determinar a razão do resíduo marcador para o total de resíduos, o resíduo marcador e o tecido alvo.

#### ▪ Resíduos radioativos totais (TRR)

- O resíduo total de um medicamento veterinário em tecidos comestíveis é a soma do IFA (precursor) e todos os metabólitos determinados em estudos radio marcados ou outros estudos equivalentes.
- Os detalhes do radio ensaio, incluindo a preparação de amostras analíticas, instrumentação e dados de normas, tecidos controle, tecidos fortificados e *incurred tissues*, devem ser completamente descritos. A capacidade do procedimento em recuperar a radioatividade adicionada aos tecidos controle deve ser demonstrada.
- Os resultados das análises das amostras para radioatividade devem ser relatados em base de peso úmido e em base de peso/peso, com  $\mu\text{g}/\text{kg}$  como unidades preferenciais. Os cálculos amostrais que apresentem conversão de cpm/peso ou dpm/peso para a base peso/peso devem ser descritos no relatório do estudo.
- A concentração total de resíduos para cada tecido deve ser relatada para cada ponto de tempo de coleta. Devem ser fornecidas as quantidades de radioatividade extraídas de resíduos totais (percentual extraível) utilizando vários tratamentos (enzima, ácido).
- Os componentes dos resíduos totais devem ser relatados para cada ponto de tempo de coleta para comparação com as concentrações totais de resíduos. Os componentes dos resíduos totais (precursor mais metabólitos) devem ser analisados para selecionar o resíduo marcador.

#### ▪ Perfil dos metabólitos

- Recomendações para caracterização dos metabólitos (metabólitos principais e metabólitos menores):
  - Os metabólitos principais normalmente são aqueles que compreendem  $100 \mu\text{g}/\text{kg}$  ou 10% do resíduo total em uma amostra coletada no primeiro momento.
  - Os metabólitos principais normalmente precisam ser caracterizados e estruturalmente identificados, por exemplo, usando uma combinação de técnicas cromatográficas e espectrometria de massa.

- Normalmente, nenhuma diferenciação de metabólitos abaixo desses níveis (ou seja, dos metabólitos menores) é recomendada a menos que haja preocupações sobre a natureza dos resíduos que ocorrem nos níveis mais baixos.

#### ▪ **Seleção do resíduo marcador e tecidos alvo**

- Indicar um resíduo marcador e os tecidos alvo.
- Um resíduo marcador apropriado tem as seguintes propriedades:
  - existe uma relação conhecida entre o resíduo marcador e a concentração total de resíduos no tecido de interesse;
  - o resíduo marcador deve ser adequado para testar a presença de resíduos no momento de interesse, ou seja, a adesão ao período de retirada; e
  - deve haver um método analítico validado praticável para medir o resíduo marcador ao nível do LMR.

#### ▪ **Concentrações do resíduo marcador**

- Os LMRs são estabelecidos com base na suposição de 100% de recuperação do resíduo marcador. Portanto, é fundamental informar se as concentrações de resíduos relatadas nos estudos em análise foram corrigidas para recuperação e se isso foi levado em conta na recomendação do LMR.

#### ▪ **Razão do resíduo marcador para resíduos radioativos totais (MR : TRR)**

- Esta seção deve incluir um relato dos fatores de conversão do resíduo marcador para resíduos totais (MR:TR) para cada espécie, quando estes possam ser determinados. É fundamental que a razão MR:TR seja determinada no ponto de tempo que coincide com as concentrações utilizadas como base para os LMRs e os cálculos de ingestão alimentar.
- Usar tabelas para resumir os dados. Incluir uma tabela que compare os resíduos totais e marcadores e as razões MR:TR em vários momentos de amostragem, quando tanto os resíduos marcadores quanto os totais são determinados em um estudo.

#### ▪ **Resíduos no local da injeção**

- Dependendo das vias de administração utilizadas nos estudos de farmacocinética e metabolismo, pode haver informações sugerindo que resíduos persistentes no local da injeção requerem consideração. As informações definitivas sobre esta questão normalmente virão dos estudos de depleção com IFA radio marcado realizados com uma via de administração e dose típicas daquelas utilizados no tratamento de animais com o produto comercial ou de estudos utilizando a formulação comercial e análise para a droga precursora ou resíduo marcador. Quando houver preocupações sobre resíduos persistentes no local da injeção, incluir um parágrafo com esse subtítulo .

#### **8.2.1. Validação do método analítico**

- Protocolo: Para que os dados de resíduos sejam considerados aceitáveis, os métodos analíticos utilizados nos estudos de resíduos devem ser validados segundo o VICH GL49.
- Deve ser apresentada a descrição detalhada do método de análise e os parâmetros de validação para a determinação dos resíduos nos tecidos, ovos, leite ou mel.
- Características a serem avaliadas: linearidade, acurácia, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, seletividade, estabilidade na matriz/amostra processada e robustez.

- Além dos parâmetros de desempenho, deve ser informada a eficiência de extração ou recuperação e estimativa da incerteza.

- Embora se reconheça que os estudos de resíduos devem ser realizados sob BPL utilizando metodologia validada, os experimentos de validação do método não se enquadram no escopo das regulamentações de BPL. No entanto, os dados brutos gerados como resultado de uma validação do método devem ser arquivados e estarem disponíveis mediante solicitação.

#### a) Linearidade

- A linearidade pode ser descrita por um *plot* de regressão linear, polinomial ou outro (conforme apropriado) de concentração conhecida *versus* resposta usando um mínimo de 5 concentrações diferentes.

- As curvas padrão de calibração podem ser geradas em três formatos, dependendo da metodologia: padrões em solvente/tampão, padrões fortificados em extrato de matriz controle e padrões fortificados em matriz controle, e processados por procedimento de extração.

#### b) Acurácia

- A acurácia recomendada para métodos de resíduos varia dependendo da concentração do analito:

Analyte Concentration*	Acceptable Range for Accuracy
< 1 µg/kg	-50 % to +20 %
≥ 1 µg/kg < 10 µg/kg	-40 % to +20 %
≥ 10 µg/kg < 100 µg/kg	-30 % to +10 %
≥ 100 µg/kg	-20 % to +10 %

\* µg/kg = ng/g = ppb

#### c) Precisão

- A precisão intra e entre as corridas deve ser determinada pela avaliação de um mínimo de três réplicas em três concentrações diferentes representativas da faixa de validação pretendida (que deve incluir o LOQ) ao longo de três dias de análise.

Analyte Concentration	Acceptable within-run precision (Repeatability), %CV	Acceptable between-run precision %CV*
< 1 µg/kg	30 %	45%
≥ 1 µg/kg < 10 µg/kg	25 %	32%
≥ 10 µg/kg < 100 µg/kg	15%	23%
≥ 100 µg/kg	10 %	16%

\* as determined by the Horwitz equation  $CV = 2^{(1-0.5 \log C)}$  where C = concentration expressed as a decimal fraction (e.g. 1 µg/kg is entered as  $10^{-9}$ ).



**d) Limite de detecção (LOD)**

- Deve ser relatado o limite de detecção (LOD) do método analítico utilizado, ou seja, a menor concentração medida de um analito a partir do qual é possível deduzir a presença do analito na amostra de ensaio com certeza aceitável.

**e) Limite de quantificação (LOQ)**

- Deve ser relatado o limite de quantificação (LOQ) do método analítico utilizado, ou seja, o menor conteúdo medido de um analito acima do qual a determinação pode ser feita com o grau especificado de acurácia e precisão.

- Limite de quantificação (LQ), limite de decisão (Lc) e limite de detecção (LD) em uma representação gráfica.

**f) Estabilidade na Matriz**

- É importante determinar quanto tempo as amostras podem ser armazenadas sob as condições de armazenamento propostas sem degradação excessiva antes da análise. Como parte do procedimento de validação ou como um estudo separado, um estudo de estabilidade precisa ser realizado para determinar as condições de armazenamento adequadas (por exemplo, 4°C, -20°C ou -70°C) e o tempo de armazenamento das amostras antes da análise.

**g) Estabilidade da amostra processada**

- A estabilidade do analito no extrato da amostra processada deve ser avaliada conforme necessário para determinar a estabilidade em condições de armazenamento de amostras processadas.

**h) Robustez**

- A robustez deve ser avaliada especialmente para áreas do método que podem sofrer alterações ou modificações ao longo do tempo.

**i) Eficiência de extração ou recuperação**

- Deve ser relatada a eficiência de recuperação do método analítico utilizado, se for o caso.

- A recuperação de métodos usando a detecção de radio marcados geralmente é de 100%, por isso as informações de recuperação devem se concentrar em métodos para compostos precursores e/ou metabólitos usando outros métodos de detecção.

- Quando a recuperação completa não for alcançada por um método específico, os resultados analíticos devem ser corrigidos em 100% para determinar se o resíduo está dentro ou excede o LMR.

- Espera-se que os dados de recuperação sejam informados para cada corrida analítica e os resultados das amostras incluídas nesse período analítico devem ser corrigidos para a recuperação determinada para o período. Quando os dados de recuperação não estão disponíveis para cada corrida analítica, é possível que apenas uma recuperação média para o método analítico esteja disponível, em vez disso ser usado para corrigir os resultados individuais para recuperação, mas deve ser declarado que este foi o procedimento utilizado.

#### j) Estimativa de incerteza

- Embora não seja um parâmetro de validação, é importante que seja fornecida a estimativa da incerteza para que possa ser observado o intervalo de variação possível dos resultados encontrados.

#### 8.3. Estudos de depleção de resíduos com IFA não radio marcado

- Protocolo: VICH GL48.

- Deve haver um número adequado de pontos de dados para traçar uma curva de esgotamento em cada matriz (gordura, rim, fígado, músculo, ovo, leite ou mel) para o qual um LMR deve ser definido ou deve ser claramente demonstrado que não há resíduos quantificáveis ou não detectáveis presentes em um tecido específico no ponto de tempo correspondente às concentrações utilizadas como base para definição do LMR em outros tecidos contendo resíduos quantificáveis. Os dados de depleção geralmente são apresentados em tabelas nesta seção.

- Quando os resultados de um determinado estudo com IFA não radio marcado podem ser diretamente comparados com os resultados de um estudo com o IFA radio marcado (mesma idade, classe e peso corporal dos animais, mesma dose e via de administração, mesmos ou semelhantes tempos de amostragem), é apropriado discutir a comparabilidade dos resultados dos dois estudos. Isso pode ser feito como um parágrafo final nesta seção quando há vários estudos em uma ou mais espécies para comparar. O parágrafo resumo também deve apontar quaisquer deficiências nos dados disponíveis.

- No mínimo, são necessários os dados de resíduos de um estudo de depleção no âmbito das BPV estabelecida, com dados que se estendem para ou além do período de retirada mais longo estabelecido, bem como as razões de resíduos marcadores para totais (quando necessárias para o cálculo da ingestão alimentar).

- Devem ser realizados na espécie alvo e incluir informações sobre os resíduos totais, resíduos livres e resíduos ligados nos diferentes tecidos.

- Devem ser realizados com as formulações disponíveis, nas vias de administração e nas espécies-alvo, utilizando a dose e a duração de tratamento máximos recomendados.

- Devem ser realizados nos seguintes tecidos: músculo (no caso de peixes, inclui a pele em proporções naturais), gordura (no caso de aves e suínos, inclui a pele em proporções naturais), fígado, rim e, quando aplicável, leite, ovos e mel.

- Para formulações injetáveis intramusculares ou subcutâneas contendo IFA com preocupação em relação à DRfA, devem ser incluídos os dados de depleção de resíduos no sítio da injeção.

- O estudo de depleção de resíduos marcadores deve levar em conta todos os fatores que possam contribuir para a variabilidade dos níveis de resíduos em *commodities* animais no planejamento e condução dos ensaios. A intenção aqui é que esses "outros fatores" (por exemplo, raças animais, maturidade física, etc.) sejam considerados dentro do *pool* de animais a serem incluídos no estudo sem justificar um aumento no número de animais.

- Idealmente, os tecidos de animais tratados devem ser coletados para fornecer dados de resíduos acima da tolerância em um mínimo de dois pontos de tempo de amostragem e dados de resíduos abaixo da tolerância (mas acima do LOQ) no mínimo de um ponto de tempo amostral. O objetivo de fornecer dados de resíduos abaixo da tolerância é evitar a extrapolação excessiva da regressão linear ao período de retirada proposto.

- Desenho do estudo:

- Animais saudáveis e, de preferência, não medicados anteriormente.

- Os animais (raça) devem representar a população para o uso pretendido do produto.
  - Artigo de teste representativo da formulação comercial.
  - Tratamento consistente com o rótulo pretendido do produto (por exemplo, dose e duração máxima).
  - Um estudo de depleção de resíduos (para tecidos) realizado para cada espécie.
  - Se o produto for administrado por mais de uma rota parenteral (IM, SC, EV), o estudo de depleção do resíduo marcador deve ser separado para cada rota.
  - Número de animais amplo o suficiente para permitir uma avaliação significativa: para mamíferos, pelo menos 16 animais com 4 animais devidamente distribuídos em quatro intervalos de tempo; para aves, pelo menos 6 amostras em cada tempo de abate.
  - Injetáveis: múltiplas injeções alternadamente entre os lados esquerdo e direito.
- Mel e peixe são tratados em GLs separados: VICH GL 56 - *Study design recommendations for residue studies in honey for establishing MRLs and withdrawal periods* e VICH GL 57 - *Marker residue depletion studies to establish product withdrawal periods in aquatic species*.

### **8.3.1. Validação do método analítico**

- Apresentar a validação do método analítico dos estudos de depleção de resíduos com IFA não radio marcado, conforme descrito no item 8.2.1.

### **8.4. Metabolismo comparativo**

- Protocolo: VICH GL47.
- O objetivo desse estudo é comparar os metabólitos em animais de laboratório aos resíduos em tecidos comestíveis de animais produtores de alimentos, a fim de determinar se os animais de laboratório utilizados nos testes toxicológicos foram expostos aos metabólitos aos quais os seres humanos podem ser expostos pelos resíduos em produtos de origem animal, evidência de que a segurança dos metabólitos foi adequadamente avaliada nos estudos toxicológicos.
- Questão a ser respondida: Os testes toxicológicos em espécies laboratoriais avaliaram os compostos corretos?
- Esta seção deve incluir um parágrafo resumindo os achados dos estudos relatados em várias espécies, além de parágrafos que resumam qualquer estudo *in vitro* ou outro metabolismo comparativo. A figura da via metabólica e/ou a tabela do resumo podem ser incluídas para fornecer informações mais detalhadas, quando necessário.

#### **▪ Identificação e quantificação dos resíduos**

- A determinação da radioatividade total nas amostras e a contabilização do equilíbrio de massa da radioatividade normalmente não são conduzidas para os estudos de metabolismo comparativo *in vivo*. Quando a radioatividade total for determinada, os procedimentos apresentados no VICH GL 46 devem ser seguidos.

### **8.5. Elaboração do LMR**

- Protocolos: VICH GLs 46, 47 e 49 fornecem as informações sobre metabolismo e depleção de resíduos necessários para definir o LMR.

### 8.5.1. LMRs propostos

- O requerente deve propor valores de LMR para gordura, fígado, rim e músculo e as espécies para as quais essas recomendações se aplicam, juntamente com quaisquer recomendações de LMR para leite e/ou ovos, novamente com espécies identificadas, e/ou recomendações de LMR para mel. Também deve descrever a abordagem utilizada para a definição desses valores.

### 8.5.2. Metodologia utilizada para definir os LMRs propostos

- Procedimento para estabelecer LMR:

**Etapa 1.** Listar os valores de IDA/DRfA e o desfecho que a embasou (crônico ou agudo).

**Etapa 2.** Quando a base para a IDA é um desfecho crônico e dados suficientes de resíduos estão disponíveis para determinar concentrações medianas de resíduos, então a IDE é usada para estimar a ingestão e os LMRs podem ser recomendados de acordo com este cálculo. Se dados suficientes não estiverem disponíveis para calcular uma IDE, então a IDTM é usada para estimar a ingestão dietética quando a IDA é baseada em um desfecho crônico. Se a base para a IDA for um desfecho agudo, a GEADE deve ser usada para estimar a ingestão alimentar. Quando a IDA é baseada em um desfecho toxicológico agudo, é provável que uma DRfA também seja recomendada, com base na avaliação toxicológica. As recomendações de LMRs devem ser consistentes com o cálculo de exposição utilizado e devem resultar em uma ingestão estimada abaixo da IDA (ou DRfA).

**Etapa 3.** Identificar qualquer fator adicional a ser incluído no cálculo de ingestão. Geralmente, serão fatores para conversão do resíduo marcador para resíduo total.

**Etapa 4.** Revisar as informações sobre BPV para o IFA, particularmente a maior dose aprovada e o tempo de retirada associado a esse tratamento. O objetivo é desenvolver recomendações de LMRs consistentes com o limite superior de ingestão alimentar associado à IDA (ou DRfA) e também com os tempos de retirada estabelecidos.

**Etapa 5.** Usar a ferramenta estatística JECFA ou um método equivalente de cálculo para desenvolver recomendações potenciais de LMR com base no cálculo de exposição apropriado (IDE, IDTM ou GEADE).

- Quando todos os resíduos em um tecido, ovos, leite ou mel em um momento de amostragem estão abaixo do LOQ, os LMRs geralmente são recomendados em uma concentração duas vezes maior que o LOQ (2 x LOQ). Estes LMRs destinam-se a limites de orientação e a intenção é que não haja resíduos quantificáveis na matriz especificada.

- Descrever o modelo de ingestão dietética utilizado na avaliação e as razões para o uso deste modelo.

### 8.5.3. Análise estatística dos dados de depleção de resíduos

- O JECFA desenvolveu uma ferramenta para auxiliar na análise estatística dos dados de depleção disponíveis durante o desenvolvimento das recomendações de LMR. A abordagem baseia-se principalmente na análise de regressão linear e na estimativa estatística dos limites de tolerância superior unilateral para o esgotamento do resíduo marcador nos tecidos alvo individuais. Um procedimento iterativo é então usado para calcular em diferentes pontos de tempo na curva de esgotamento a ingestão de resíduos de preocupação na cesta de alimentos. A ingestão calculada de resíduos é comparada com a IDA e o ponto de tempo de esgotamento abaixo da IDA é selecionado para determinar os LMRs.

- A ferramenta está acessível em <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/guidelines0/residue-depletion/en/>

▪ **Considerações especiais, como resíduos persistentes em locais de injeção**

- Para alguns compostos, pode haver preocupações que dificultam a recomendação de LMR. A mais comum delas é a persistência de resíduos no local de aplicação, de tal forma que os resíduos nesse tecido muscular podem exceder o valor de LMR para o tecido muscular no momento da retirada estabelecido. Nesses casos, recomenda-se um LMR para músculo, mas com a observação de que pode haver um problema com resíduos no local de injeção superior ao LMR para tecido muscular nas condições de uso aprovadas.

**8.6. Disponibilidade de método analítico para o monitoramento dos resíduos**

- Deve constar um método praticável para analisar resíduos em tecido. A adequação de um método analítico proposto para uso regulatório a fim de apoiar os LMRs é determinada com base nos critérios estabelecidos pelo CCRVDF para a validação desses métodos, conforme contido no CAC/GL 71-2009, rev. 2012, 2014, *Guidelines for the Design and Implementation of National Regulatory Food Safety Assurance Programmes Associated with the Use of Veterinary Drugs in Food Producing Animals*. A terminologia analítica deve ser consistente com as definições que constam em CAC/GL 72-2009, *Guideline on Analytical Terminology*.

- Além dos critérios típicos de validação, os critérios para adequação do método incluem a disponibilidade de reagentes e equipamentos necessários e a acessibilidade do método para um laboratório de regulação de rotina. Métodos que utilizam reagentes que não estão disponíveis comercialmente, a menos que possam ser preparados em um laboratório de rotina, ou métodos usando instrumentos protótipos (ou obsoletos) não são considerados adequados. O método deve utilizar equipamentos que devem ser encontrados em um laboratório onde se faz testes de rotina para resíduos de medicamentos veterinários em alimentos.

- Uma breve descrição do princípio do método é dada para garantir que o método atenda à exigência de que seja adequado para uso em um laboratório de controle de resíduos tipicamente equipado, incluindo as informações de que o método foi validado em um estudo colaborativo, em um estudo de BPL ou que foi fornecido por um laboratório sob acreditação ISO-17025 (ou equivalente). Informações básicas devem ser dadas sobre a validação do método, incluindo informações sobre parâmetros críticos como o LOQ, precisão e a faixa analítica.

**9. ESTIMATIVA DE EXPOSIÇÃO**

**9.1. Identificação se o IFA é de uso dual**

- Deve ser informado se o IFA também tem uso como agrotóxico.

- Em caso de IFA dual, a avaliação da exposição crônica deve considerar conjuntamente o emprego do medicamento veterinário e do agrotóxico.

**9.2. Abordagem utilizada**

- Nesta seção, devem ser incluídas informações sobre o tipo de avaliação de exposição realizada (IDE, IDMT ou outro), a razão pela qual esse tipo de avaliação foi escolhido, os dados utilizados e o resultado. Deve ser incluída uma tabela detalhando o cálculo de ingestão. É apropriado incluir números que mostrem as parcelas do limite de tolerância nas quais o LMR está baseado e as concentrações medianas correspondentes utilizadas nos cálculos da IDE para exposição alimentar (ou outros).

- Quando outras informações são usadas nos cálculos de ingestão, como quantidades de alimentos utilizadas em um cálculo GECDE ou GEADE, estas devem ser claramente declaradas e a fonte das informações deve ser identificada e referenciada.

- Quando os dados de depleção são limitados, como é o caso dos resíduos abaixo do LOQ na maioria dos pontos de tempo nos tecidos (ou leite, ovos ou mel), tais parcelas podem ser de pouco valor e as informações podem ser resumidas no texto. Quando os dados de concentração de resíduos encontrados nos estudos de depleção estiverem abaixo do limite de quantificação do método de análise, devem ser considerados o limite de quantificação do método dividido por dois.

### **9.3. Porção da IDA disponível**

- Relatar o quanto da IDA estaria comprometida devido a avaliações anteriores assim como a porção comprometida nesta avaliação.

## **10. REFERÊNCIAS**

- Listar as referências utilizadas.

## **11. ANEXOS**

- Listar e anexar os estudos completos e demais documentos ao final do RTC.

## **Bibliografia**

Arcella D, Boobis A, Cressey P, Erdely H, Fattori V, Leblanc JC, Lipp M, Reuss R, Scheid S, Tritscher A, Van der Velde-Koerts T, Verger P (2019). Harmonized methodology to assess chronic dietary exposure to residues from compounds used as pesticide and veterinary drug, *Critical Reviews in Toxicology*, 49:1, 1-10.

Boobis A, Cerniglia C, Chicoine A, Fattori V, Lipp M, Reuss R, Verger P, Tritscher A (2017). Characterizing chronic and acute health risks of residues of veterinary drugs in food: latest methodological developments by the joint FAO/WHO expert committee on food additives, *Critical Reviews in Toxicology*, 47:10, 889-903.

FAO – WHO (2000). Procedures for Recommending Maximum Residue Limits - Residues of Veterinary Drugs in Food.

FAO – WHO (2004). Pesticide residues in food – 2004. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues (FAO Plant Production and Protection Paper, 178).

FAO – WHO (2006). Updating the Principles and Methods of Risk Assessment: MRLs for Pesticides and Veterinary Drugs.

FAO – WHO (2009). Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. (Environmental health criteria; 240).

FAO – WHO (2009). Codex Alimentarius. CAC/GL 71-2009, rev. 2012, 2014. Guidelines for the Design and Implementation of National Regulatory Food Safety Assurance Programmes Associated with the Use of Veterinary Drugs in Food Producing Animals.

FAO – WHO (2009). Codex Alimentarius. CAC/GL 72-2009. Guideline on Analytical Terminology.

FAO – WHO (2012). Joint FAO/WHO expert meeting on dietary exposure assessment methodologies for residues of veterinary drugs. Final report including report of stakeholder meeting. Geneva: World Health Organization.

FAO – WHO (2016). Module II: Scientific guidelines for the preparation of veterinary drug residue monographs, working papers and related summary documents for Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) drafting experts and reviewers assigned by FAO.

Solecki R, Davies L, Dellarco V, Dewhurst I, van Raaij M, Tritscher A (2005). Guidance on setting of acute reference dose (ARfD) for pesticides. *Food Chem Toxicol.* 43(11):1569–93.

U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Veterinary Medicine (2018). General Principles for Evaluating the Human Food Safety of New Animal Drugs Used in Food-Producing Animals Guidance for Industry.



WHO (2009). A Risk-Based Decision Tree Approach for the Safety Evaluation of Residues of Veterinary Drugs.

WHO (2009). Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Seventieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 954, 2009

WHO (2015). Pesticide residues in food: guidance document for WHO monographers and reviewers. Geneva: World Health Organization, WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues.

WHO (2016). Guidance document for WHO monographers and reviewers evaluating veterinary drug residues in food.

WHO (2017). Guidance document for the establishment of Acute Reference Dose (ARfD) for veterinary drug residues in food.

**OECD Test Guidelines:**

<https://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>

- OECD (1987). Test No. 401: Acute Oral Toxicity.
- OECD (1997). Test No. 471: Bacterial Reverse Mutation Test.
- OECD (1997). Test No. 486: Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells in vivo.
- OECD (2001). Test No. 416: Two-Generation Reproduction Toxicity.
- OECD (2002). Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method.
- OECD (2008). Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure.
- OECD (2010). Test No. 124: Guidance for the derivation of an acute reference dose.
- OECD (2010). Test No. 417: Toxicokinetics.
- OECD (2013). Test No. 488: Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays.
- OECD (2016). Test No. 421: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test.
- OECD (2016). Test No. 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test.
- OECD (2016). Test No. 473: In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test.
- OECD (2016). Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test.
- OECD (2016). Test No. 475: Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test.
- OECD (2016). Test No. 476: In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests using the Hprt and xpprt genes.
- OECD (2016). Test No. 478: Rodent Dominant Lethal Test.
- OECD (2016). Test No. 483: Mammalian Spermatogonial Chromosomal Aberration Test.
- OECD (2016). Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test.
- OECD (2016). Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay.

- OECD (2016). Test No. 490: In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests Using the Thymidine Kinase Gene.
- OECD (2018). Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents.
- OECD (2018). Test No. 414: Prenatal Developmental Toxicity Study.
- OECD (2018). Test No. 451: Carcinogenicity Studies.
- OECD (2018). Test No. 452: Chronic Toxicity Studies.
- OECD (2018). Test No. 453: Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies.

**VICH Guidelines:**

<https://www.vichsec.org/en/guidelines/pharmaceuticals/pharma-safety/environmental-safety.html>

- VICH (2004). VICH GL22 - Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Reproduction Toxicity Testing.
- VICH (2014). VICH GL23 - Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Genotoxicity Testing.
- VICH (2004). VICH GL28 - Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Carcinogenicity Testing.
- VICH (2004). VICH GL31 - Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Repeat-Dose (90-Day) Toxicity Testing.
- VICH (2004). VICH GL32. Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Developmental Toxicity Testing.
- VICH (2009). VICH GL33 - Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: General approach to testing.
- VICH (2019). VICH GL36 - Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: General approach to establish a microbiological ADI.
- VICH (2004). VICH GL37 - Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Repeat-Dose (Chronic) Toxicity Testing.
- VICH (2011). VICH GL46 - Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: Metabolism study to determine the quantity and identify the nature of residues.
- VICH (2011). VICH GL47 - Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: Laboratory animal comparative metabolism studies.
- VICH (2015). VICH GL48 - Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: Marker-residue-depletion studies to establish product withdrawal periods.
- VICH (2015). VICH GL49 - Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food producing animals: Validation of analytical methods used in residue depletion studies.
- VICH (2016). VICH GL54 - Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: General approach to establish an acute reference dose (ARfD).
- VICH (2018). VICH GL56 - Study design recommendations for residue studies in honey for establishing MRLs and withdrawal periods.
- VICH (2019). VICH GL57 - Marker residue depletion studies to establish product withdrawal periods in aquatic species.