

Webinar com a Coordenação de Reavaliação discute o Guia de Mutagenicidade para avaliação de ingredientes ativos de agrotóxicos.

Realização:

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**Coordenação de Reavaliação - CREAV
Gerência de Monitoramento e Avaliação do Risco - GEMAR
Gerência-Geral de Toxicologia - GGTOX**



webinar
seminários virtuais



GUIA MUTAGENICIDADE

Guia 66/2023 – Versão 1
Avaliação do potencial mutagênico de agrotóxicos

Contribuições até 15 de abril de 2024

CREAV - NOV 2023



Princípios
fundamentais
da avaliação

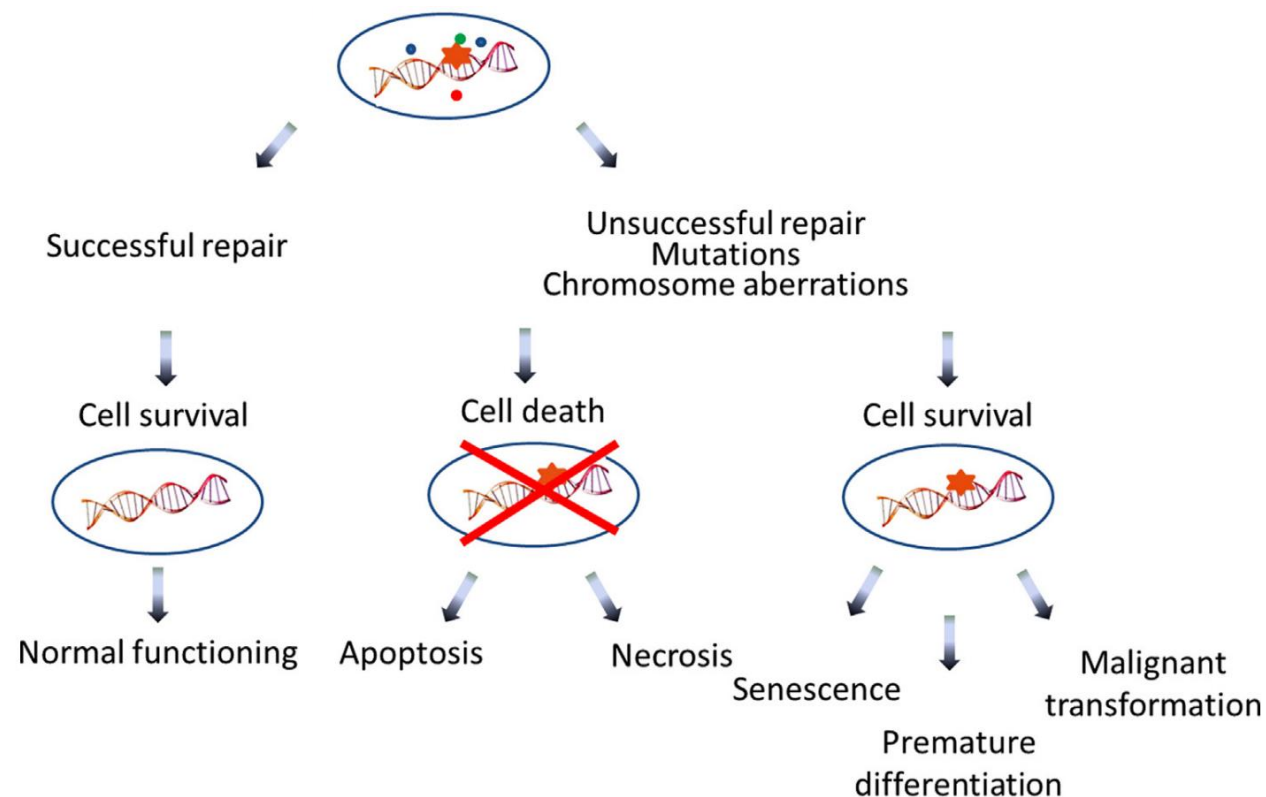
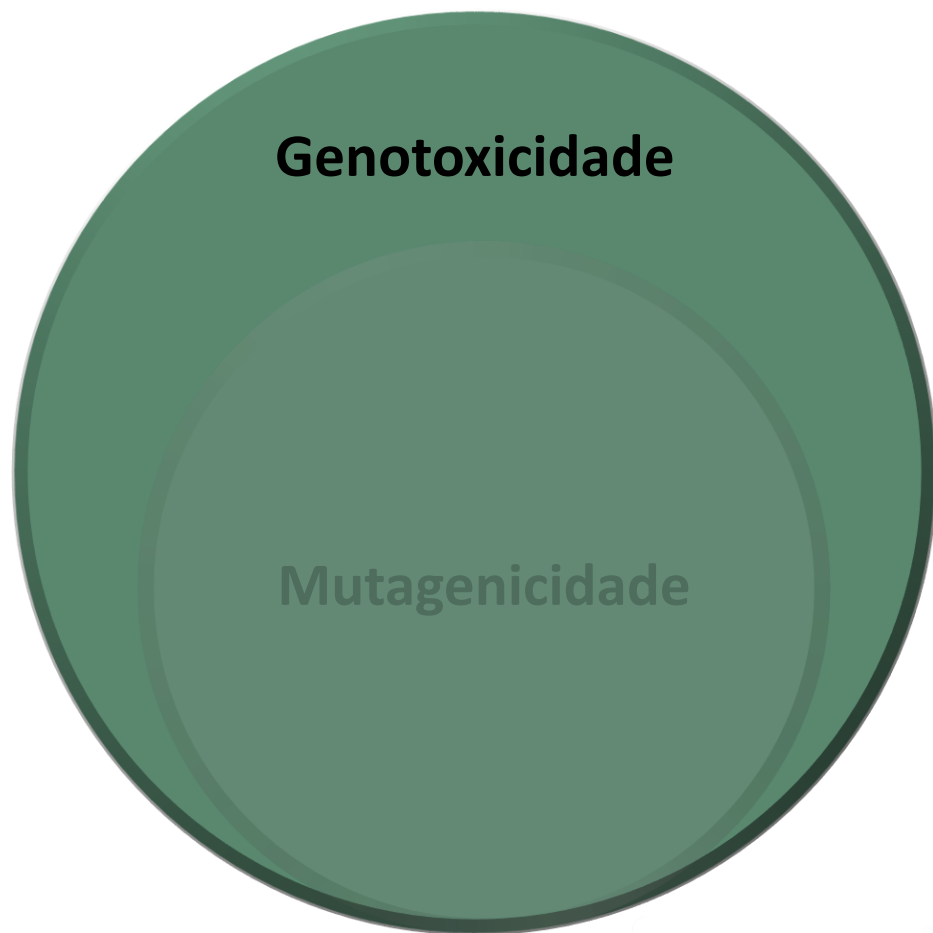
Análise
baseada no
peso da
evidência

Decisão com ausência de
documentos: justificativa
técnica, previsão legal,
exigência de estudos
adicionais.

Produtos novos
RDC n.º 294/2019

Decisão com os dados
disponíveis no momento
da análise.

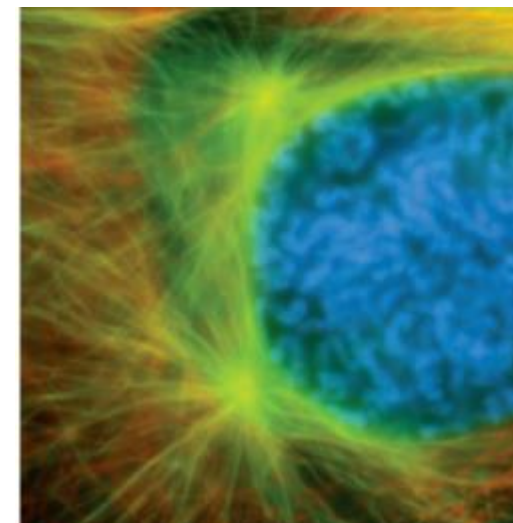
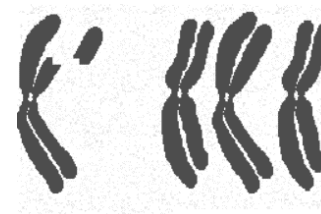
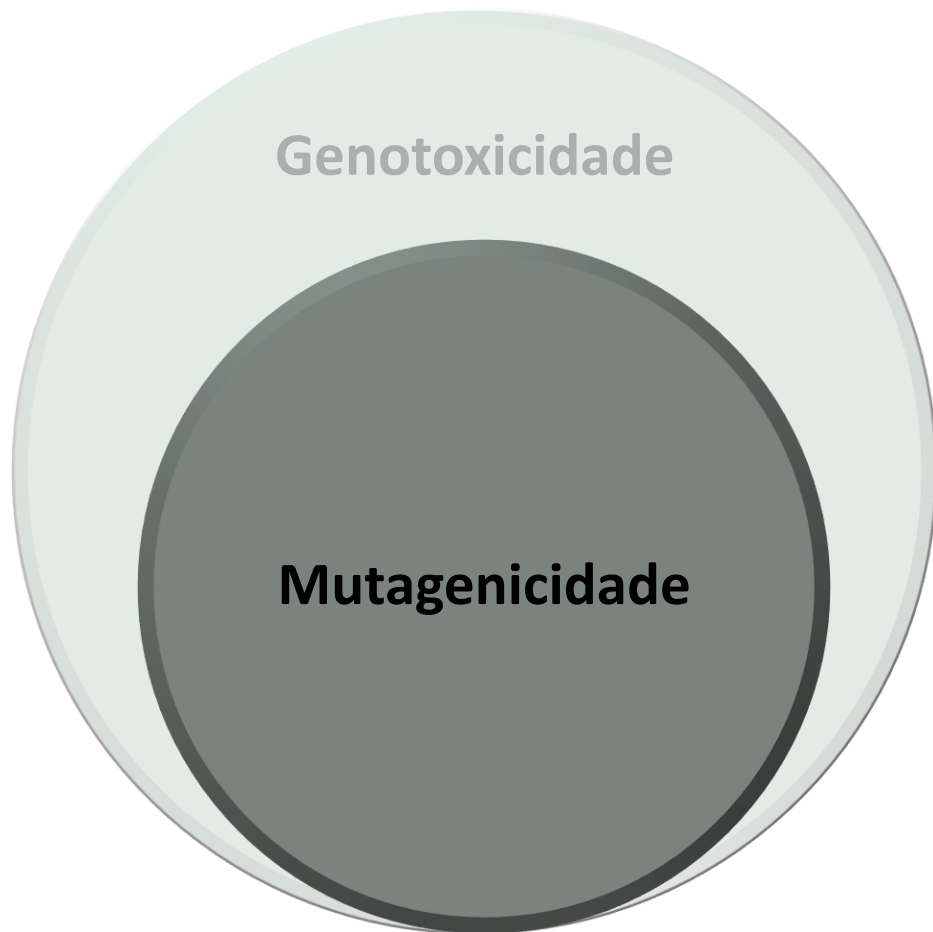
Reavaliação
RDC nº 221/2018



- Síntese não programada de DNA (OECD 486);
- Quebras de fitas de DNA (OECD 489);

Ensaio mensura eventos que não são, necessariamente, transmissíveis de célula a célula ou de geração a geração.

WEIGHT OF EVIDENCE: Dados suplementares.



Alteração permanente e hereditária no material genético da célula: mutações gênicas e aberrações cromossômicas.



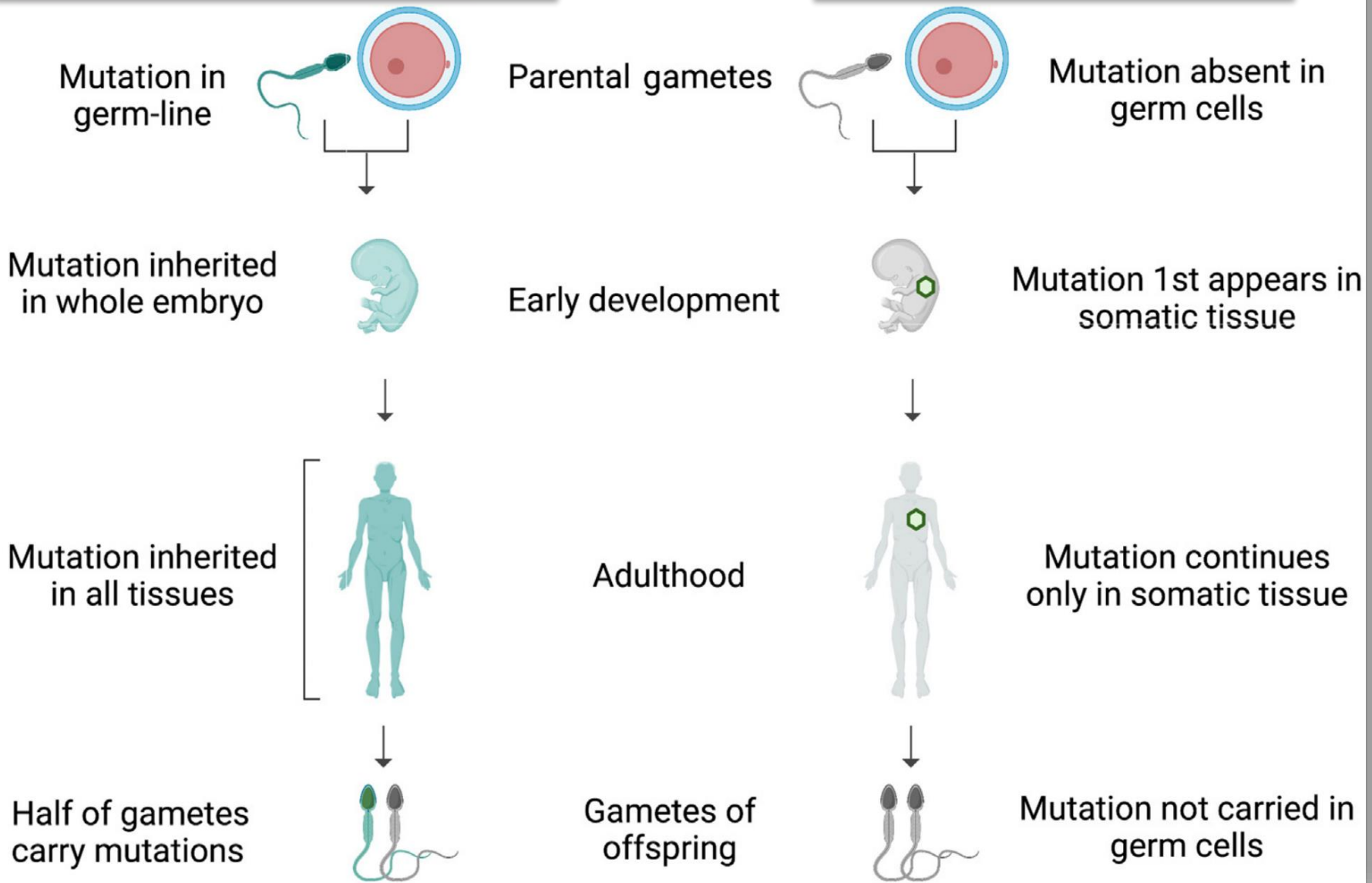
Item 7: Guia de mutagenicidade

WEIGHT OF
EVIDENCE



CÉLULAS GERMINATIVAS

CÉLULAS SOMÁTICAS



Lei nº 7.802/1989

Proibição do registro de agrotóxicos, seus componentes e afins que apresentem evidências suficientes de mutagenicidade.

Decreto nº 4.074/2002
alterado pelo Decreto nº 10.833/2021

Se aplica aos casos em que não seja possível determinar o limiar de dose que permita proceder com as demais etapas de avaliação do risco à saúde.

RDC nº 294/2019

Quando um composto é mutagênico?

Art. 27. Um produto é considerado mutagênico quando causar mutações em células germinativas de seres humanos ou quando houver evidências suficientes, com base no peso da evidência, sobre o potencial mutagênico do produto, a partir das quais se presume que tal produto causa mutações em células germinativas de seres humanos.

Parágrafo único. Um produto mutagênico em células somáticas é considerado mutagênico em células germinativas, a não ser que exista evidência suficiente demonstrando que ele não induz mutação em células germinativas de mamífero.



Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019



Danos cromossômicos em células somáticas

- Indução de MN (OECD 474 – item 7.2.2.1)
- Ensaio citogenético (OECD 475 – item 7.2.2.2)

Mutação gênica

- Células somáticas/ germinativas (OECD 488 – item 7.2.1.1)



Danos cromossômicos

- Ensaio citogenético (OECD 473 – item 7.1.2.1)
- Indução de MN (OECD 487 – item 7.1.2.2)

Mutação gênica

- Células bacterianas (OECD 471 – item 7.1.1.1)
- Células mamíferos (OECD 476 – item 7.1.1.2 ou OECD 490 – item 7.1.1.3)



RDC nº 294/2019 - Anexo I

Como avaliar o potencial mutagênico?

Produto técnico

Danos cromossômicos em células somáticas

- Indução de MN (OECD 474 – item 7.2.2.1)
- Ensaio citogenético (OECD 475 – item 7.2.2.2)

Mutação gênica

- Células somáticas/ germinativas (OECD 488 – item 7.2.1.1)

Danos cromossômicos

- Ensaio citogenético (OECD 473 – item 7.1.2.1)
- Indução de MN (OECD 487 – item 7.1.2.2)

Mutação gênica

- Células bacterianas (OECD 471 – item 7.1.1.1)
- Células mamíferos (OECD 476 – item 7.1.1.2 ou OECD 490 – item 7.1.1.3)

Positivo ou equivoco






RDC nº 294/2019 e RDC nº 221/2018

Como avaliar o potencial mutagênico?

Reavaliação



**Danos cromossômicos
em células somáticas**

- Indução de MN (OECD 474 – item 7.2.2.1)
- Ensaio citogenético (OECD 475 – item 7.2.2.2)

**Mutação
gênica**

- Células somáticas/ germinativas (OECD 488 – item 7.2.1.1)



**Danos
cromossômicos**

- Ensaio citogenético (OECD 473 – item 7.1.2.1)
- Indução de MN (OECD 487 – item 7.1.2.2)

**Mutação
gênica**

- Células bacterianas (OECD 471 – item 7.1.1.1)
- Células mamíferos (OECD 476 – item 7.1.1.2 ou OECD 490 – item 7.1.1.3)



RDC nº 294/2019 - Art. 27

Como avaliar o potencial mutagênico?

PT/ PF/ Reavaliação

Danos cromossômicos em células germinativas

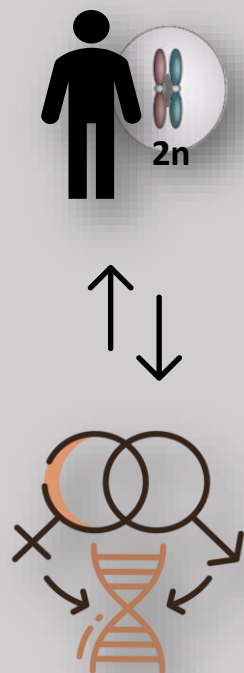
- Citogenético (7.2.2.4)
- Erro de translocação herdável (7.2.2.5)

Mutação gênica

- Mutação gênica em células germinativas (7.2.1.1)



Evidências de que o composto não alcança as células germinativas





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

1) Agrupamento das evidências em linhas semelhantes



2) Atribuição de peso às evidências


AVALIAR A FORÇA DA EVIDÊNCIA

3) Integração das evidências



Abordagem de peso da evidência (WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

1) Agrupamento das evidências em linhas semelhantes

Abordagem de peso da evidência (WoE)

Identificar, filtrar e organizar as evidências

Relevância e confiabilidade





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

1) Agrupamento das evidências em linhas semelhantes



2) Atribuição de peso às evidências


AVALIAR A FORÇA DA EVIDÊNCIA

Grau de confiabilidade do resultado de um experimento com base na significância estatística/ biológica e em seu delineamento experimental.

Abordagem de peso da evidência (WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

1) Agrupamento das evidências em linhas semelhantes



2) Atribuição de peso às evidências


AVALIAR A FORÇA DA EVIDÊNCIA

3) Integração das evidências



Interpretar todas as informações disponíveis

Abordagem de peso da evidência (WoE)





RDC nº 294/2019 - Art. 27

PRINCÍPIOS

Confiabilidade

Exatidão e precisão: delineamento experimental; significância estatística e biológica.

Relevância

Contribuição fornecida por determinada linha de evidência para responder a dada pergunta.

Consistência

Compatibilidade entre contribuições de diferentes linhas de evidência para responder a dada pergunta.

Abordagem de peso da evidência (WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Estudos regulatórios e da literatura científica



Resultados *in vitro*/*in vivo*



Estudos com humanos



Dados toxicocinéticos

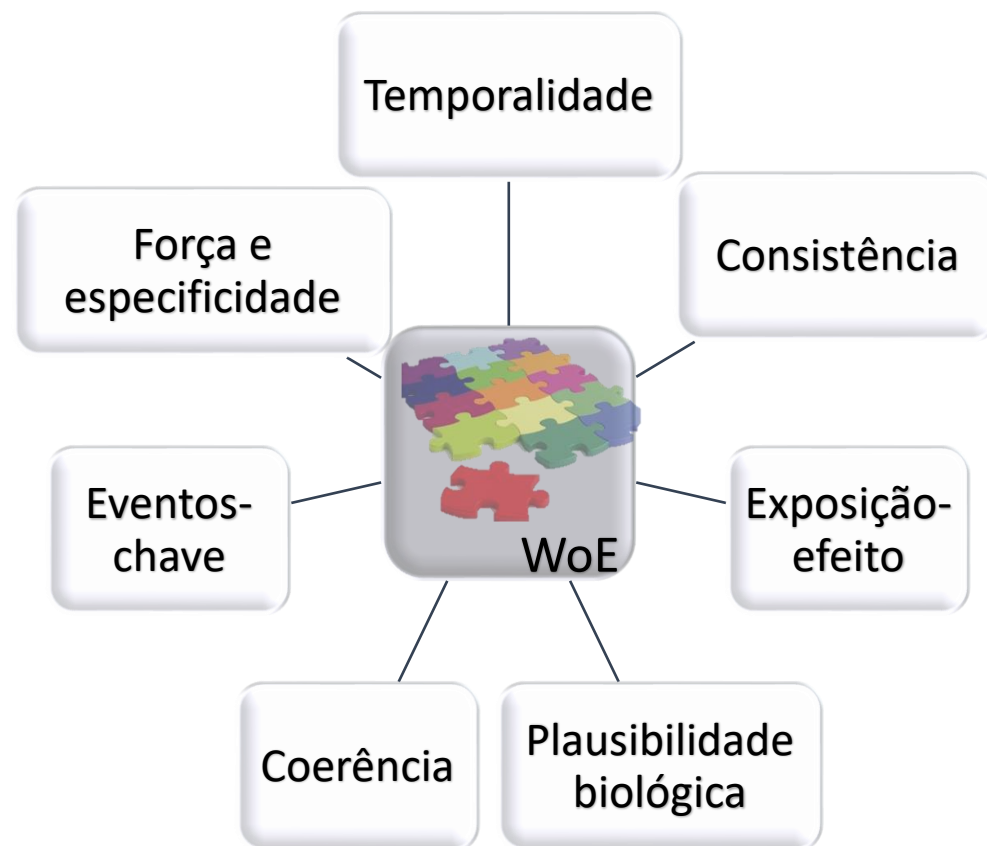


Dados mecanísticos



Subpopulações mais susceptíveis

Abordagem
de peso da
evidência
(WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Estudos regulatórios e da literatura científica



Resultados *in vitro*/*in vivo*



Estudos com humanos



Dados toxicocinéticos

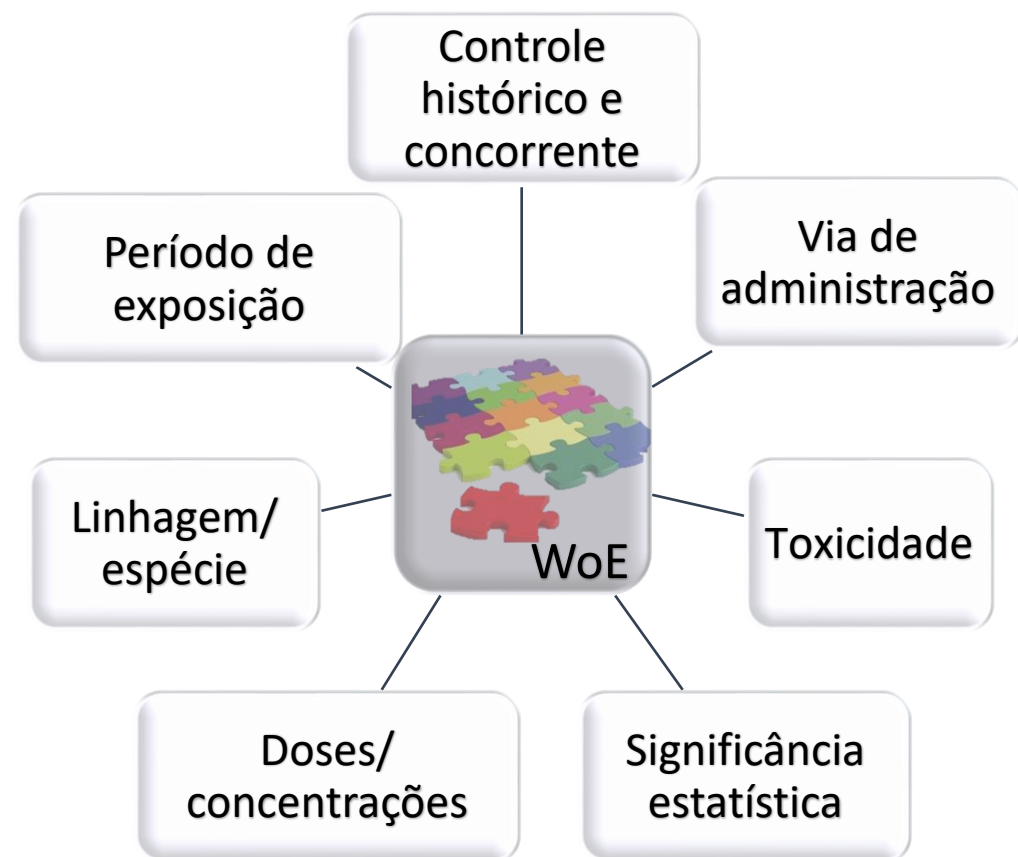


Dados mecanísticos



Subpopulações mais susceptíveis

Abordagem de peso da evidência (WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Abordagem
de peso da
evidência
(WoE)

Estudos regulatórios e da literatura científica



Resultados *in vitro/in vivo*



Estudos com humanos



Dados toxicocinéticos



Dados mecanísticos



Subpopulações mais susceptíveis

Todos os estudos de
qualidade são incluídos -
positivos ou negativos.





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Estudos regulatórios e da literatura científica



Resultados *in vitro/ in vivo*



Estudos com humanos



Dados toxicocinéticos

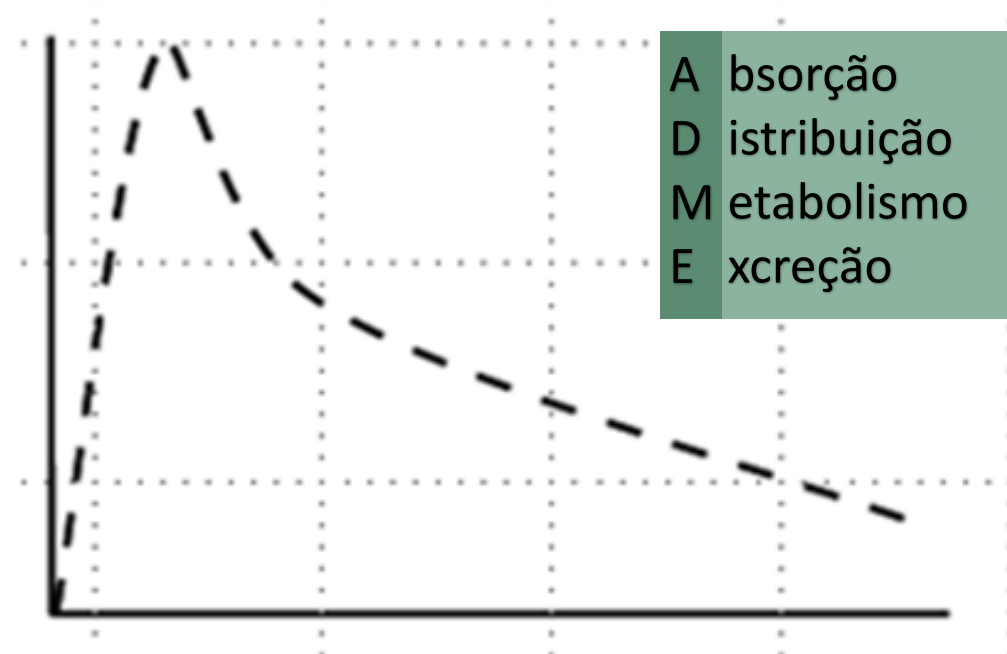


Dados mecanísticos



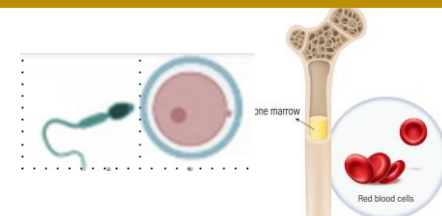
Subpopulações mais susceptíveis

Abordagem de peso da evidência (WoE)



Evidência de que o composto alcançou o sítio-alvo

Via de administração





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Estudos regulatórios e da literatura científica

Resultados *in vitro*/*in vivo*



Estudos com humanos



Dados toxicocinéticos



Dados mecanísticos



Subpopulações mais susceptíveis

MoA: Sequência de eventos-chave e processos que se iniciam com a interação entre o agente e a célula, seguida por alterações funcionais e anatômicas, resultando na resposta biológica.

Mecanismo de ação: implica maior detalhamento e descrição dos eventos do que o MoA, muitas vezes em nível molecular.

Abordagem de peso da evidência (WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Estudos regulatórios e da literatura científica



Resultados *in vitro/ in vivo*



Estudos com humanos



Dados toxicocinéticos



Dados mecanísticos

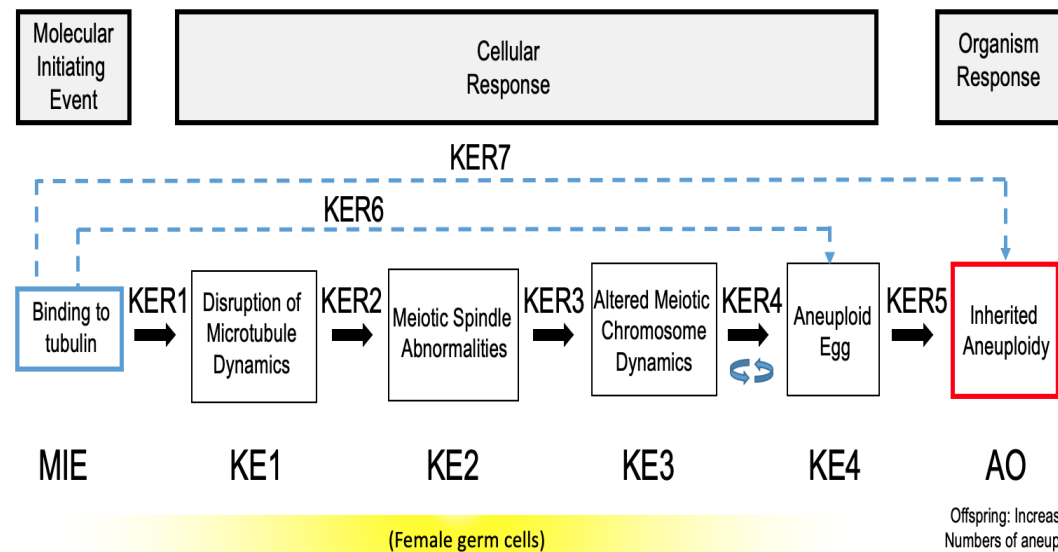


Subpopulações mais susceptíveis



Sequência de eventos causalmente relacionados em diferentes níveis de organização biológica após a exposição a uma substância e que leva a um efeito adverso.

Abordagem de peso da evidência (WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Estudos regulatórios e da literatura científica



Resultados *in vitro*/*in vivo*



Estudos com humanos



Dados toxicocinéticos



Dados mecanísticos



Subpopulações mais susceptíveis



Sequência de eventos causalmente relacionados em diferentes níveis de organização biológica após a exposição a uma substância e que leva a um efeito adverso.

- ✓ Decisão regulatória
- ✓ Identificação de lacunas de dados
- ✓ Proposta de ensaios
- ✓ Facilitação de extrapolações
- ✓ Complementação/ substituição de desfechos apicais



Abordagem de peso da evidência (WoE)





Como avaliar o potencial mutagênico?

RDC nº 294/2019 - Art. 27

Abordagem
de peso da
evidência
(WoE)

Via i.p. – não se
pode excluir a
relevância para
humanos.

Células
somáticas

Demais vias

Estudos *in vitro*

Desfechos
genotóxicos

Células
germinativas

Via oral

Estudos *in vivo*

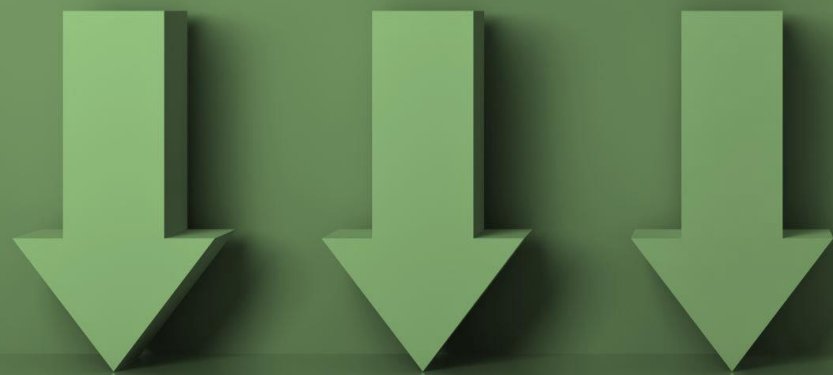
Desfechos
mutagênicos

1. Mutação gênica
2. Aneugenicidade
3. Clastogenicidade

RDC nº 294/2019



MESMA ABORDAGEM?



Como avaliar o potencial mutagênico?

Uso de avaliações toxicológicas de autoridades internacionais

Desfechos mutagênicos

Potencial evento-chave de um MoA relacionado a outros desfechos

Desfecho regulatório propriamente dito

Como avaliar o potencial mutagênico?

Uso de avaliações toxicológicas de autoridades internacionais

RDC nº 294/2019



MESMA ABORDAGEM

Divergências de interpretação podem ocorrer, especialmente quando os avaliadores possuem acesso a diferentes estudos



RDC nº 294/2019

Como avaliar o potencial mutagênico?

Uso de avaliações toxicológicas de autoridades internacionais



Comparação das conclusões internacionais

- Adequabilidade das conclusões à legislação brasileira;
- Suficiente harmonia entre as discussões internacionais;
- Concordância com a avaliação do WoE realizada no Brasil;

Conclusões exclusivamente com base nas discussões internacionais.

RDC nº 294/2019



Comparação das
conclusões
internacionais

Como avaliar o potencial mutagênico?

Uso de avaliações toxicológicas de autoridades internacionais

Discordâncias entre autoridades e superficialidade na discussão

Discrepâncias no modo de avaliação em relação à Anvisa

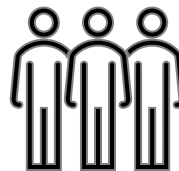
Diferenças na quantidade de estudos incluídos nas análises

Existência de novas evidências

Avaliação mais aprofundada pela ANVISA

RDC nº 294/2019 - Anexo IV

Como fazer a classificação toxicológica?



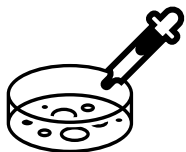
1A

Produto conhecido por induzir mutações em células germinativas de seres humanos.

Evidência positiva a partir de estudos epidemiológicos com seres humanos.

RDC nº 294/2019 - Anexo IV

Como fazer a classificação toxicológica?



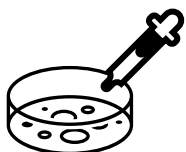
1B

Produto que **presumidamente** induz mutações em células germinativas de seres humanos.

- resultados positivos em estudos que mostram efeitos mutagênicos em células germinativas de seres humanos, sem a demonstração de transmissão à progênie; ou
- resultados positivos de estudos de mutagenicidade *in vivo* em células germinativas de mamíferos; ou
- resultados positivos de estudos de mutagenicidade *in vivo* em células somáticas de mamíferos, em combinação com evidência de que a substância tem o potencial de causar mutações em células germinativas; ou
- resultados positivos de estudos de mutagenicidade *in vivo* em células somáticas de mamíferos, na ausência de estudo de mutagenicidade *in vivo* em células germinativas.

RDC nº 294/2019 - Anexo IV

Como fazer a classificação toxicológica?



2

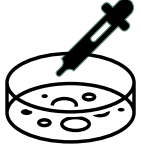
Produto que mostra **indicação** de causar efeitos genotóxicos, mas sem evidência de causar mutagenicidade em células germinativas.

- resultados positivos de estudos de mutagenicidade *in vivo* em células somáticas de mamíferos, em combinação com resultados negativos de estudos de mutagenicidade em células germinativas *in vivo*; ou
- resultados positivos de estudos de genotoxicidade não mutagênicos *in vivo* em células somáticas que são suportados por resultados positivos de estudos de mutagenicidade *in vitro*; ou
- resultados positivos em estudos *in vitro* de mutagenicidade em células de mamíferos em combinação com evidência de relação estrutura-atividade da substância-teste com mutágenos conhecidos em células germinativas.


RDC nº 294/2019 - Anexo IV

Como fazer a classificação toxicológica?

Células bacterianas	Células somáticas <i>in vitro</i>	
-	-	➔ Não classificado



+	+	➔ Células somáticas <i>in vivo</i>
-	+	
+	-	



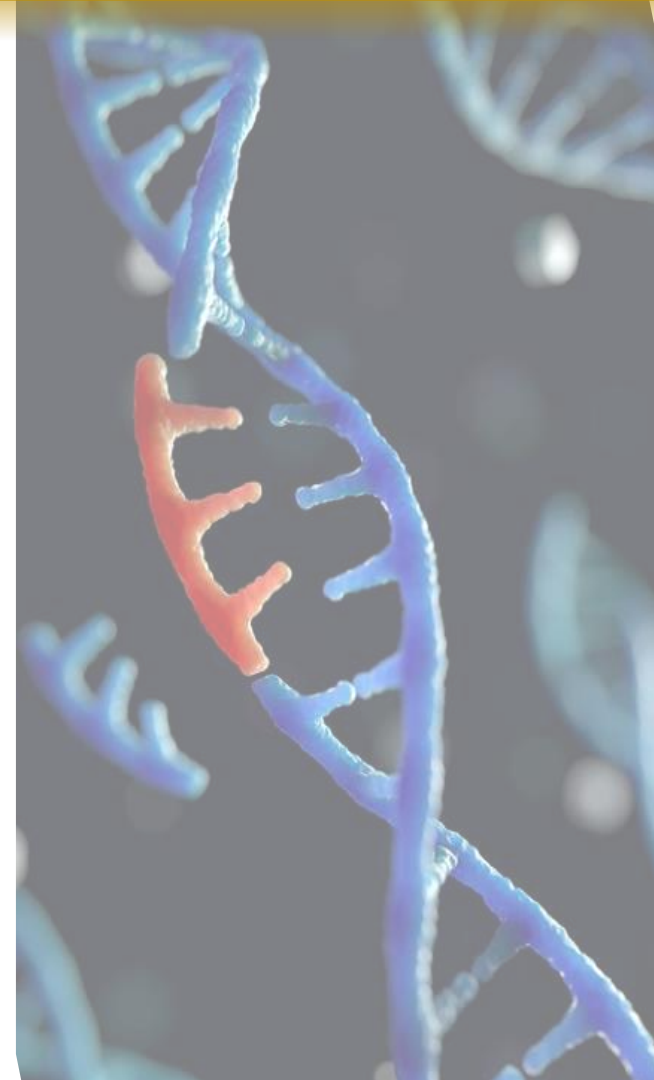
-	➔ Não classificado
---	--------------------

+	➔ 1B
	➔ Células germinativas <i>in vivo</i>



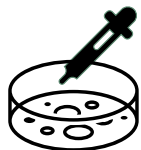
-	➔ 2
---	-----

+	➔ 1B
---	------



RDC nº 294/2019 - Anexo IV

Células somáticas *in vitro*



- Aneugênese E Clastogênese → Não classificado

+ Aneugênese OU Clastogênese → **Células somáticas *in vivo***



- → Não classificado

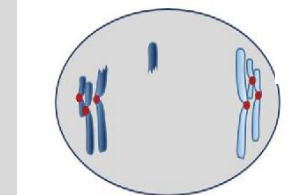
+ Aneugênese OU Clastogênese → **1B**
Células germinativas *in vivo*



- → 2

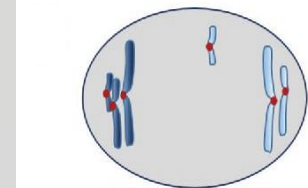
+ → 1B

Como fazer a classificação toxicológica?



Micronuclei without centromere/kinetoch

CLASTOGÊNESE
Dano ao DNA



Micronuclei with centromere/kinetochore

ANEUGÊNESE
Erro de separação

DESENHO EXPERIMENTAL QUE AVALIE O DESFECHO CORRETO!

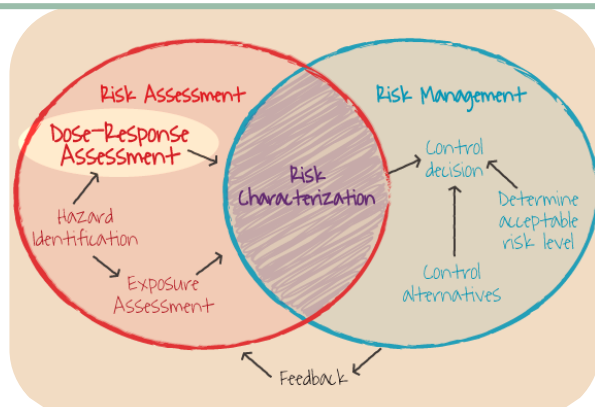


RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

O pedido de avaliação toxicológica será indeferido quando as etapas de identificação do perigo e de avaliação dose-resposta indicarem:

Evidências suficientes para os produtos serem categorizados como conhecidos ou presumidamente **mutagênicos**, **carcinogênicos**, **teratogênicos**, causadores de efeitos adversos ao desenvolvimento embriofetal ou neonatal, de dano ao aparelho reprodutor ou de distúrbios hormonais...

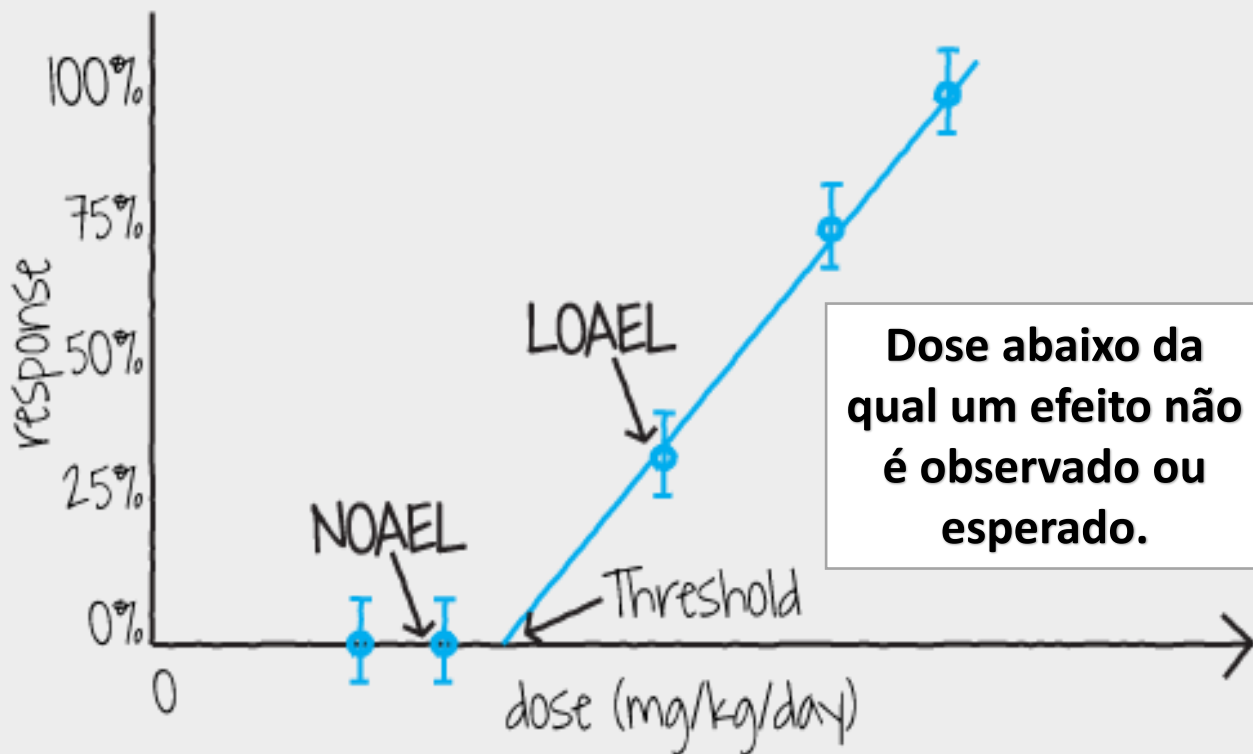
**E**

não for possível determinar um limiar de dose para algum desses desfechos que permita proceder com as demais etapas da avaliação do risco, conforme critérios definidos em norma complementar.

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

O pedido de avaliação toxicológica será indeferido quando as etapas de identificação do perigo e de avaliação dose-resposta indicarem:

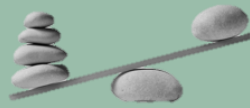


não for possível determinar um limiar de dose para algum desses desfechos que permita proceder com as demais etapas da avaliação do risco, conforme critérios definidos em norma complementar.

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

Avaliação do potencial mutagênico



Classificação toxicológica



Avaliação dose-resposta



Escolha do PoD

Derivação doses de referência

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

**Avaliação
dose-
resposta**

SEM LIMIAR

**Mutação gênica/
clastogenicidade**

COM LIMIAR

Aneugenicidade

Escolha do
PoD

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

Avaliação do potencial mutagênico

Classificação toxicológica

Avaliação dose-resposta

Ausência de limiar

Não segue para próximas etapas

SEM LIMIAR

Mutação gênica/
clastogenicidade

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

**Avaliação
dose-
resposta**

COM LIMIAR

Aneugenicidade

Interferência em
diversos alvos
celulares – não
diretamente o DNA

nº crítico de sítios-
alvos afetados para
a ocorrência do
efeito adverso.

Escolha do
PoD

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

Avaliação
dose-
resposta

COM LIMIAR

Aneugenicidade

Escolha do
PoD

Guia EFSA, 2021:

Determinação de limiar para substâncias com grande riqueza de dados (dose-resposta *in vivo* bem caracterizada, tanto para a aneugenicidade quanto para outros desfechos toxicológicos).

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

**Avaliação
dose-
resposta**

COM LIMIAR

Aneugenicidade

Escolha do
PoD



Adequada determinação da dose-reposta em células germinativas *in vivo*.

Caracterização mecanística.

Dose suficientemente protetiva para evitar ocorrência do MIE e eventos-chave do MoA.

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose

Avaliação do potencial mutagênico

Classificação toxicológica

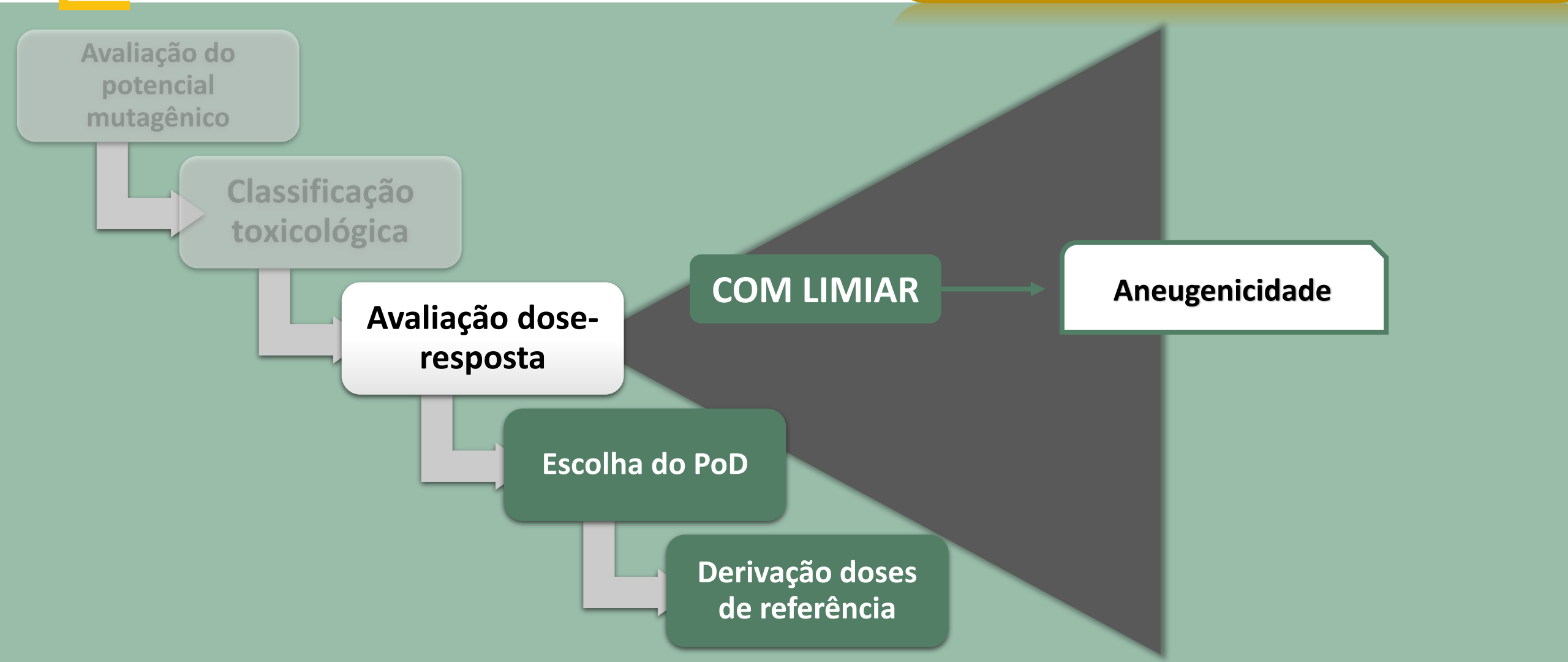
Avaliação dose-resposta

Escolha do PoD

Derivação doses de referência

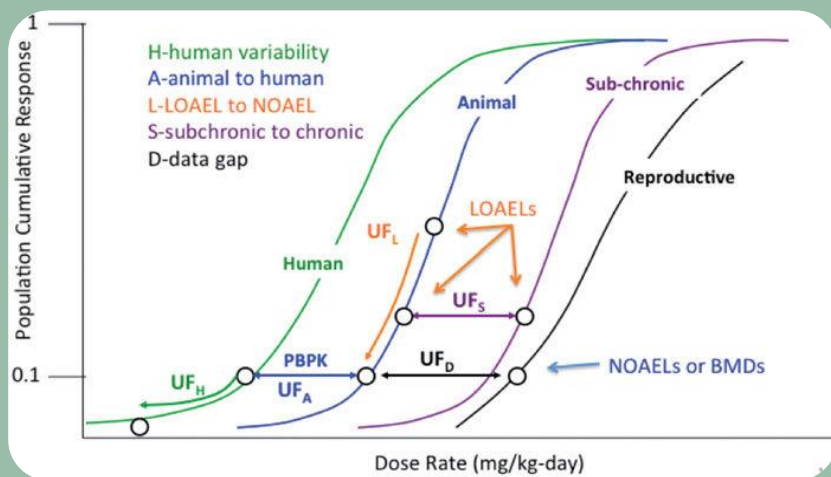
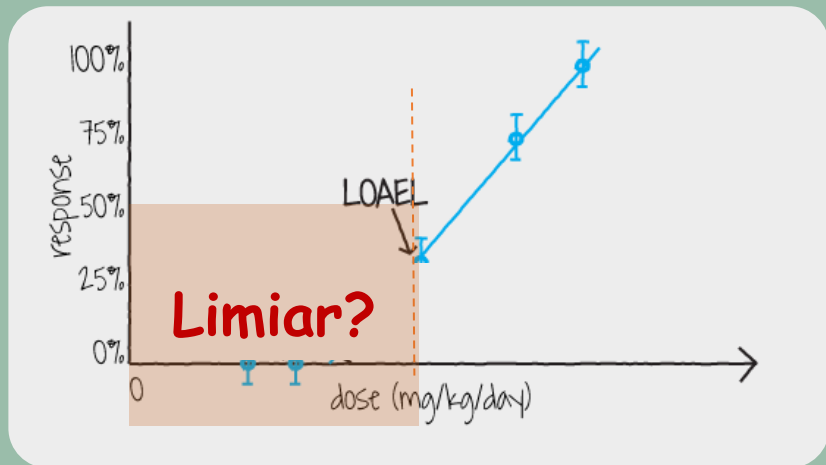
COM LIMIAR

Aneugenicidade



RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose



Extrapolação de LOAEL para NOAEL?

Publicações indicam valores superiores a 10x - dados dose-resposta recentes mostram que os FI podem variar de 2 a 20.

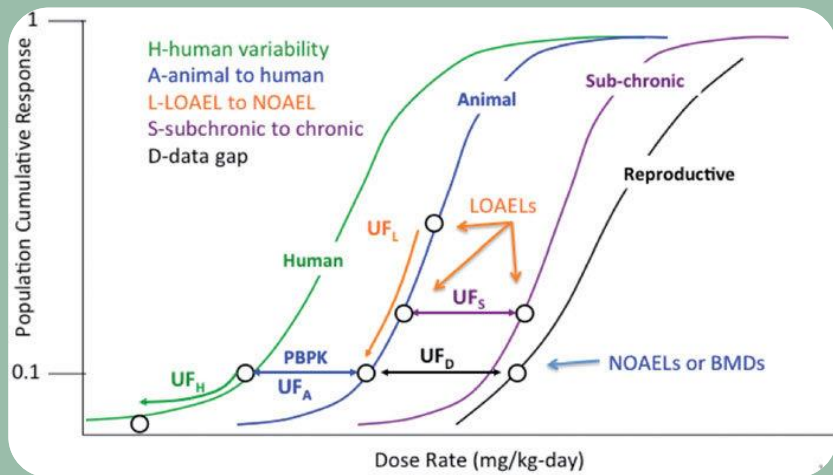
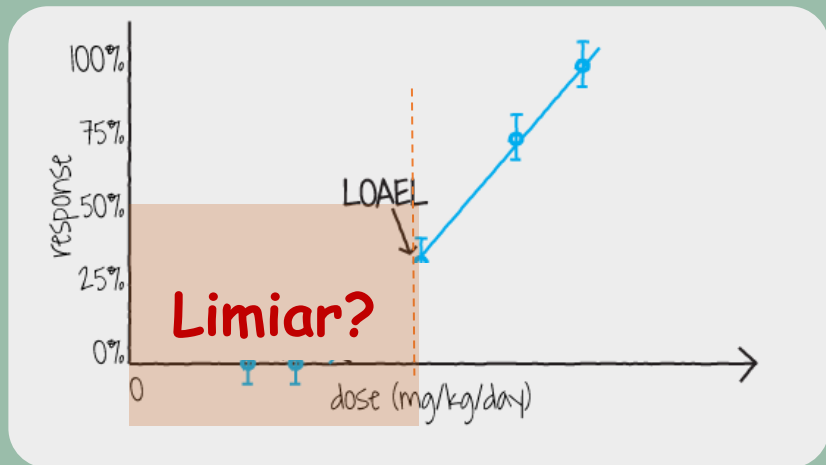
Linearização quando há subpopulações mais susceptíveis (polimorfismos).

Linearização em baixas doses para uma população.

Ainda não há padrão na interpretação de dados mutagênicos para uso de BMD.

RDC nº 294/2019 - Art. 33

Limiar de dose



Extrapolação de LOAEL para NOAEL?

Valores-padrão de variabilidade interespecie e humana utilizados para outros desfechos podem não ser apropriados para mutagenicidade *in vivo*.

Para extrapolar um curto tratamento para mais longa duração, FI adicionais de 5 a 15 podem ser necessários.

Maior susceptibilidade dos ovócitos humanos à aneuploidia em comparação aos espermatozoides e às células somáticas/ germinativas de roedores.

RDC nº 296/2019 - Anexo II

Classificação e Rotulagem

CLASSIFICAÇÃO

ROTULAGEM

CATEGORIA

PICTOGRAMA
GHS

PALAVRA DE ADVERTÊNCIA

FRASE DE PERIGO

1A e 1B



Perigo

Pode provocar defeitos genéticos (indicar a via de exposição, se for conclusivamente comprovado que nenhuma outra via de exposição provoca o dano).

2



Atenção

Suspeito de provocar defeitos genéticos (descrever a via de exposição, se for conclusivamente comprovado que nenhuma outra via de exposição provoca o dano).



**Previsão para
entrega de
outros estudos**

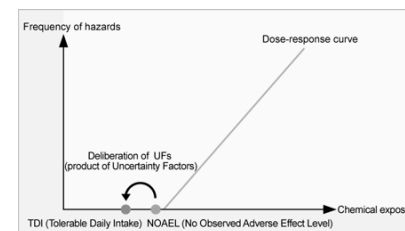
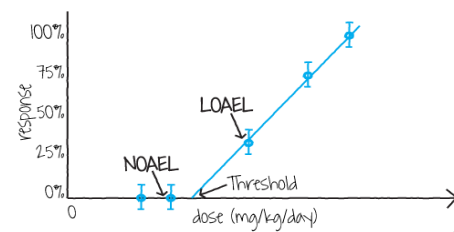
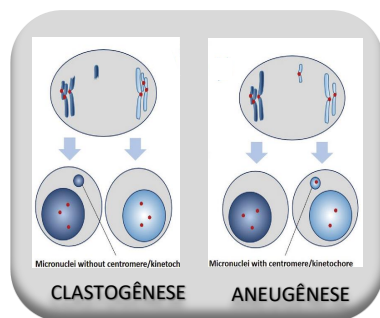
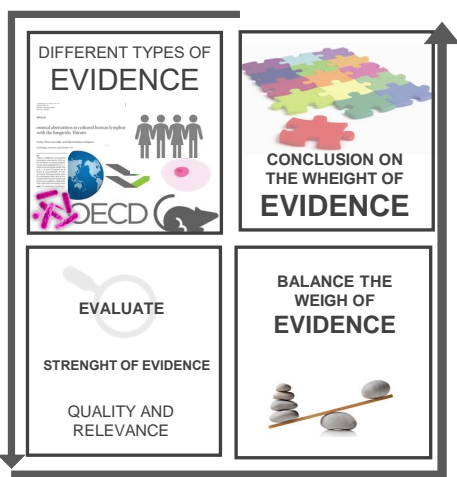
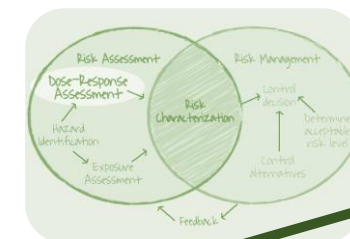


Ensaio ou abordagens avaliativas alternativas, validadas, suficientemente robustas e aceitas internacionalmente no contexto regulatório também podem fazer parte da avaliação.

Avaliados quanto às suas limitações, aceitabilidade e resultados, com base nos mesmos fundamentos científicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Item 8



Avaliação do risco



OBRIGADA!

Camila Moreira - Juliana Braz – Larissa Muratori – Maria Augusta Carvalho – Thiago Santana
CREAV – GEMAR – GGTOX

Guia 66/2023 – Versão 1
Avaliação do potencial mutagênico de agrotóxicos

Contribuições até 15 de abril de 2024